

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATÓIDES
COM FUNGOS NEMATÓFAGOS**

Pedro Luiz Martins Soares

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Novembro de 2006

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATÓIDES
COM FUNGOS NEMATÓFAGOS**

Pedro Luiz Martins Soares

Orientador: Prof. Dr. Jaime Maia dos Santos

Co-Orientador: Prof. Dr. José Carlos Barbosa

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Novembro de 2006

S676e Soares, Pedro Luiz Martins
Estudo do controle biológico de fitonematóides com fungos
nematófagos / Pedro Luiz Martins Soares. -- Jaboticabal, 2006
xxx; 217 f. : il.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006
Orientador: Jaime Maia dos Santos
Co-Orientador: José Carlos Barbosa
Banca examinadora: Clélia Aparecida Lunes Lapera, Marineide
Mendonça Aguilera, Carlos Amadeu Leite de Oliveira, Júlio César
Galli
Bibliografia

1. *Arthrobotrys* spp. 2. *Dactylella* spp. 3. *Paecilomyces lilacinus*. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 582.288

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de
Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PEDRO LUIZ MARTINS SOARES - nascido em 03 de fevereiro de 1976, em São Paulo – SP. Graduiu-se em Agronomia pela UNESP/Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal - SP, em dezembro de 1999. Foi bolsista de Iniciação Científica da FAPESP, Diretor de Recursos Humanos e Financeiro da Consultoria Agropecuária Júnior (CAP_{JR}). Estagiou no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da mesma instituição, onde desenvolveu trabalho de pesquisa intitulado “Caracterização morfológica e bioquímica de populações de *Rotylenchulus* Linford & Oliveira (1940), oriundas de diferentes regiões do Brasil”, no período de 1997 a 1999, e obteve os prêmios de “MELHOR TRABALHO DE GRADUAÇÃO do CURSO DE AGRONOMIA DA FCAV/UNESP em 2000” e “1º lugar na categoria graduação – Prêmio Anário Jaehn”, como o melhor trabalho de Iniciação Científica do XXII Congresso Brasileiro de Nematologia em 2000, realizado na UFU em Uberlândia - MG. Em 2003, obteve o Título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola), no Departamento de Fitossanidade da UNESP/Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, com a pesquisa intitulada “Estudos morfológicos, biológicos e caracterização molecular de populações de *Rotylenchulus reniformis* (Nemata: Rotylenchulinae) do Brasil” e foi bolsista do CNPq. Também em 2003, ingressou como aluno regular no curso de Doutorado do mesmo curso de Pós-Graduação e foi bolsista da FAPESP. No XXVIII Congresso Paulista de Fitopatologia, realizado no Instituto Biológico em São Paulo, no período de 22 a 24 de fevereiro de 2005, recebeu o prêmio “Victória Rossetti”, pelo melhor trabalho apresentado, intitulado “Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* no cultivo de alface em ambiente protegido”. No 1º semestre de 2006, ministrou aula como Professor Substituto, na Disciplina de Nematologia, para a graduação do curso de Agronomia.

Se a nossa vida é provisória,
Que seja linda e louca a nossa história,
Pois o valor das coisas não está no tempo que elas duram,
Mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis,
Coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.

(Fernando Pessoa)

DEDICO

Aos meus pais, Tom ,“in memoriam”, e Anna:

Saibam que vocês marcaram a minha vida para sempre, pelos constantes momentos de amor, carinho e atenção....Mas principalmente, pela bela história construída juntos, dedicando boa parte de suas vidas na luta por um país mais justo e fraterno. Vocês são pessoas incomparáveis...AMO-OS MUITO....

À minha irmã Juliana:

Pelo carinho, apoio e incentivo....AMO VOCÊ.....

À minha querida namorada Fabíola “FOFUXA”:

Pela confiança e, principalmente, pelo amor e carinho. Que seja linda e bela a nossa história, que está apenas começando...AMO MUITO VOCÊ

!!!!

HOMENAGEM

“Uma história chamada Tom”

Queria dizer que as pessoas não morrem, que as pessoas que partem, ficam. Que a morte é uma ilusão, que a única certeza da vida não passa de uma ilusão.

Morrer é uma ilusão que dói, mas é isso.

A pessoa não morre, porque ela fica nos gestos de amor, nos mais simples gestos de amor, que, de tão simples, se tornam profundos e enraízam nas almas e nos corações.

E cada um de nós é um composto de milhares de pedaços das pessoas que nos fizeram bem, que nos tocaram com seus abraços, que nos tocaram com suas conversas, que nos tocaram com seus conselhos, que nos transformaram na persistência de amor que somos, sempre a buscar a melhor forma de expressar.

E algumas pessoas possuem no peito um tom maior, e então, às vezes, acontece isso, de alguém ter tanta generosidade na alma, que oferece o amor que tem dentro de si, para além das fronteiras da família, além dos amigos mais próximos, oferece esse amor, de germinação, de transformação, oferece-o à multidão, aos desvalidos, aos pobres de riqueza material, mas ricos na irmandade de uma sociedade sonhada, onde a justiça triunfaria, e todos teriam direito a uma vida feliz.

Como o Tom amou o seu povo! Como ele quis, com a sua incansável suavidade, dirigi-lo para uma grande construção, a construção do bem comum, quando então o homem não explorará mais seu semelhante, e os tiranos sim, esses morrerão de verdade, porque não plantam nada na memória afetiva de um povo.

O Tom não queria lágrimas em sua despedida, em seu “tchau”, porque eu sei que você sempre sonhou com uma roda imensa, de gente feliz, celebrando a liberdade em cantorias; por isso, para mim, você será sempre lembrado como um símbolo vivo de uma luta tão bonita.

Belo pai, o bondoso namorado de nossa amiga Ana Martins, nossa forte e gentil Ana. Grande amigo, sua amizade para mim foi um dos mais significativos presentes da minha vida, e quem se fez assim tão presente,...bobagem, não morre não ! Fica bem vivo em nossas mais doces lembranças.

São Paulo, 07 de novembro de 2003.

Marciano Vasques

AGRADECIMENTOS

Ao amigo e orientador Prof. Dr. Jaime Maia dos Santos, pela dedicação, exemplo de ser humano e entusiasmo no dia-a-dia, sempre compartilhando sua sabedoria e experiência profissional, despertando em todos o interesse pelos nematóides.

À FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, por mais essa oportunidade.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelas concessões da bolsa de pesquisa (Processo: 03/05677-7) e auxílio à pesquisa (Processo: 03/12573-3), fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Conselho do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Entomologia Agrícola, pela oportunidade que me foi dada para a realização do curso.

Ao Co-Orientador, Prof. Dr. José Carlos Barbosa, pelo auxílio nas análises estatísticas e pela constante disponibilidade quando solicitada.

Aos produtores Ivo, Marcelo, Sr. Eduardo e Rodrigo, que disponibilizaram suas áreas para a implantação de parte dos experimentos.

Aos amigos André e Bruno, que sempre colaboram na implantação e avaliação dos experimentos, fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Nematologia, André, Sandra e Valmir, pela amizade, ensinamentos e ajuda nesses anos de convivência.

Aos “AMIGÔES FALSÔES”, Étore, Fabiana, Gabriel, Gabriela, Renatão e Taís, pelos momentos de descontração e eterna amizade.

Aos amigos Ademir, Antônio Augusto (Quase-lindo) e Paulo (Silvana), que apesar da distância sempre me incentivaram.

Aos colegas de graduação e pós-graduação do Laboratório de Nematologia, Anderson, Bruno, Caio, Camila, Eduardo, Ivo, Luciany, Paulo, Renata, Sérgio e Zaparoli, pelos bons momentos de convivência.

Ao amigos Dú, Bruno e Edilza, pela convivência e descontração no dia-a-dia.

Aos moradores e ex-moradores da República Tia Méri: Bixão, Tavinho, Chiba, Felipe, Juninho, Nelinho, Berne, Sarna, Pé-de-macaco, Pereba, Açogueiro, Coró, Camacho, Tchalau, Russo, Dú, Janjão, Baiano, Kaborja, Estreito, Abutre, Poca-pica, Taturana, Bode, Marcão, Suga-vara, Capial, Pateta e Dona Fátima, pelos momentos de descontração, companheirismo e amizade.

A minha Vó Victória, com 93 anos, pelo exemplo de que a vida, como um todo, faz sentido.

Aos familiares (Martins e Soares), pelo apoio.

Ao amigo Wilson, da UAD, pela amizade e pela colaboração sempre que solicitada.

Aos professores Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, Dr^a Nilza Maria Martinelli, Dr. Antônio Carlos Busoli e Dr. Júlio César Galli, pela participação e sugestões no Exame Geral de Qualificação.

Aos professores Dr. Carlos Amadeu Leite de Oliveira, Dra. Clélia Aparecida Iunes Lapera, Dr. Júlio César Galli e Dra. Marineide de Mendonça Aguilera, pelas sugestões e correções na banca examinadora.

Ao Prof. Vitório Barato Neto, pela revisão ortográfica.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, em especial à Márcia à Lígia e à Lúcia, pela colaboração de sempre.

Às colaboradoras da seção de Pós-Graduação do Câmpus da FCAV, pela presteza.

Nada na vida conquistamos sozinhos. Sempre precisamos de outras pessoas para alcançar nossos sonhos e objetivos. Muitas vezes, um simples gesto pode mudar nossa vida e contribuir para nosso sucesso.....Por isso, a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho,

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xxii
RESUMO.....	xxix
SUMMARY.....	xxx
I INTRODUÇÃO.....	1
II REVISÃO DE LITERATURA.....	4
III MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1. Detecção, Isolamento e Manutenção das Culturas Puras dos Fungos Nematófagos.....	24
3.2. Manutenção de culturas Puras dos Fungos da Coleção do Laboratório de Nematologia.....	27
3.3. Crescimento Micelial e Esporulação de um Isolado de <i>Arthrobotrys</i> <i>musiformis</i> e um de <i>Arthrobotrys oligospora</i> em Diferentes Meios de Cultura e duas Temperaturas.....	28
3.4. Potencial do Controle Biológico de <i>Meloidogyne javanica</i> Infectando Tomateiro em Vasos por Quatro Fungos Nematófagos em Casa de Vegetação.....	30
3.5. Controle Biológico de <i>Meloidogyne javanica</i> em Alface em Vasos com Quatro Fungos Nematófagos.....	31

3.6. Utilização de Fungos Nematófagos no Controle de <i>Rotylenchulus reniformis</i> em Alface em Casa de Vegetação.....	32
3.7. Avaliação Preliminar da Eficácia do Controle Biológico de <i>Meloidogyne incognita</i> em Pimentão com Fungos Nematófagos em Ambiente Protegido (I).....	34
3.8. Eficácia do Controle Biológico de <i>Meloidogyne incognita</i> Utilizando <i>Arthrobotrys musiformis</i> e <i>A. oligospora</i> em Cultivo de Pimentão sob Estufa (II).....	40
3.9. Estudo Preliminar do Controle Biológico de <i>Meloidogyne hapla</i> Utilizando Fungos Nematófagos em Estufa de Cultivo de Roseira.....	44
3.10. Estudo do Controle Biológico de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Rotylenchulus reniformis</i> Utilizando Fungos Nematófagos em Cultivo de Alface Americana sob Estufa.....	46
3.11. Avaliação Preliminar de Diferentes Substratos para Formulação de Fungos Nematófagos.....	51
3.12. Avaliação de Diferentes Substratos, Condição de Aeração do Acondicionamento e Formas de Tratamento para Produção de uma Formulação dos Fungos Nematófagos.....	53
3.13. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo Protegido de Tomateiro Cereja Orgânico com <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i>	56

3.14. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo de Quiabeiro Orgânico com <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i>	62
3.15. Controle Biológico de <i>Meloidogyne mayaguensis</i> em Goiabeira com <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> e <i>Dactylella</i> sp.....	67
3.16. Teste-Piloto para o Manejo de <i>Meloidogyne javanica</i> em Plantio Comercial de Crisântemo de Corte com Fungos Nematófagos em Ambiente Protegido em Holambra – SP.....	77
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
4.1. Detecção, Isolamento e Manutenção das Culturas Puras dos Fungos Nematófagos.....	79
4.2. Manutenção de Culturas Puras dos Fungos da Coleção do Laboratório de Nematologia.....	83
4.3. Crescimento Micelial e Esporulação de um Isolado de <i>Arthrobotrys musiformis</i> e um de <i>Arthrobotrys oligospora</i> em Diferentes Meios de Cultura e duas Temperaturas.....	83
4.4. Potencial do Controle Biológico de <i>Meloidogyne javanica</i> Infectando Tomateiro em Vasos por Quatro Fungos Nematófagos em Casa de Vegetação.....	92
4.5. Controle Biológico de <i>Meloidogyne javanica</i> em Alface em Vasos com Quatro Fungos Nematófagos.....	96
4.6. Utilização de Fungos Nematófagos no Controle de <i>Rotylenchulus reniformis</i> em Alface em Casa de Vegetação.....	99
4.7. Avaliação Preliminar da Eficácia do Controle Biológico de <i>Meloidogyne incognita</i> em Pimentão com Fungos Nematófagos em Ambiente Protegido (I).....	103

4.8. Eficácia do Controle Biológico de <i>Meloidogyne incognita</i> Utilizando <i>Arthrobotrys musiformis</i> e <i>A. oligospora</i> em Cultivo de Pimentão sob Estufa (II).....	115
4.9. Estudo Preliminar do Controle Biológico de <i>Meloidogyne hapla</i> Utilizando Fungos Nematófagos em Cultivo Comercial de Roseira sob Estufa.....	135
4.10. Estudo do Controle Biológico de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Rotylenchulus reniformis</i> Utilizando Fungos Nematófagos em Cultivo de Alface “Lucy Brown” sob Estufa.....	139
4.11. Avaliação Preliminar de Diferentes Substratos e Condição de Aeração do Acondicionamento para Formulação de Fungos Nematófagos.....	150
4.12. Avaliação de Diferentes Substratos e Formas de Tratamento para Produção de uma Formulação dos Fungos Nematófagos.....	151
4.13. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo Protegido de Tomateiro Cereja Orgânico com <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i>	161
4.14. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo de Quiabeiro Orgânico com <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i>	168
4.15. Controle Biológico de <i>Meloidogyne mayaguensis</i> em Goiabeira com <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> e <i>Dactylella</i> sp.....	181
4.16. Teste-Piloto para o Manejo de <i>Meloidogyne javanica</i> em Plantio Comercial de Crisântemo de Corte com Fungos Nematófagos em Ambiente Protegido.....	186
V. CONCLUSÕES.....	191
VI. REFERÊNCIAS.....	193

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Amostras de solo de diferentes culturas e regiões dos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e Goiás utilizadas para detecção, isolamento e identificação de fungos nematófagos predadores.....	80
2 Comparações de médias do crescimento micelial (cm) de um isolado de <i>Arthrobotrys musiformis</i> e um de <i>A. oligospora</i> em 20 meios de cultura e duas temperaturas (B.O.D. 25 ± 1 °C e temperatura ambiente) no escuro, avaliado diariamente, durante 6 dias. Jaboticabal – SP/2004.....	84
3 Comparações de médias da esporulação de um isolado de <i>Arthrobotrys musiformis</i> e um de <i>A. oligospora</i> em 20 meios de cultura e duas temperaturas (B.O.D. 25 ± 1 °C e temperatura ambiente) no escuro, após seis dias de crescimento micelial. Jaboticabal – SP/2004.....	89
4 Comparação entre as médias de sete variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre <i>Meloidogyne javanica</i> , em tomateiro, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.....	93
5 Comparação entre as médias da eficácia (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, de algumas das variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre <i>Meloidogyne javanica</i> , em tomateiro, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.....	95

- 6 Comparação entre as médias de sete variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Meloidogyne javanica*, em alface, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.. 97
- 7 Comparação entre as médias da eficácia (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, de algumas das variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Meloidogyne javanica*, em alface, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP..... 98
- 8 Comparação entre as médias de cinco variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Rotylenchulus reniformis* associado à alface, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP..... 100
- 9 Comparação entre as médias da eficácia (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, de algumas das variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Rotylenchulus reniformis* associado à alface, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP..... 102
- 10 Média no solo e nas raízes das estimativas dos números de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação da mistura de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção de pimentão cultivar Elisa, em estufa, no Município de Pirajuí – SP..... 111

- 11 Média da percentagem de controle de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias, após a aplicação da mistura de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em relação à Testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção de pimentão cultivar Elisa, em estufa, no Município de Pirajuí – SP..... 112
- 12 Média da produção de plantas de pimentão da cultivar Elisa, cultivadas em parcelas tratadas com a mistura de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiros de uma estufa de produção comercial, no Município de Pirajuí – SP..... 113
- 13 Média da população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes antes da aplicação, aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos tratamentos-testemunha (sem os fungos), suspensão de conídios de *A. oligospora*, 1 L, 2 L, 3 L e 4 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiro de produção de pimentão com as cultivares suscetíveis Amanda, Margarita e Zarco, em estufa, no Município de Reginópolis – SP..... 123
- 14 Média da eficiência dos tratamentos (% de controle), em relação à Testemunha, sobre a população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos tratamentos-testemunha (sem os fungos), Suspensão de Conídios de *Arthrobotrys oligospora*, 1 L, 2 L, 3 L e 4 L da Mistura de Partes Iguais de Arroz Colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiro de produção comercial de pimentão cultivar Amanda, em estufa, no Município de Reginópolis – SP..... 126

- 15 Média da eficiência (% de controle) dos tratamentos, em relação à Testemunha, relativa à população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos tratamentos-testemunha (sem os fungos), Suspensão de Conídios de *Arthrobotrys oligospora*, 1 L, 2 L, 3 L e 4 L da Mistura em Partes Iguais de Arroz Colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiro de produção comercial de pimentão cultivar Margarita, em estufa, no Município de Reginópolis – SP..... 132
- 16 Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação à Testemunha, relativa à população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos tratamentos: Testemunha (sem os fungos), Suspensão de conídios de *Arthrobotrys oligospora*, 1 L, 2 L, 3 L e 4 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiros de produção comercial de pimentão cultivar Zarco, em estufa, no Município de Reginópolis – SP..... 133
- 17 Média no substrato e nas raízes das populações de nematóides inicial (Pi = antes da aplicação) e aos 60 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em cocho de produção de rosas em estufa, no Município de Andradas - MG..... 137

- 18 Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, relativa às populações de nematóides no substrato e nas raízes de roseira cultivada sob estufa, em cochos, aos 60 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, no Município de Andradas - MG..... 138
- 19 Média no solo e nas raízes da população inicial de nematóides (P_i = antes da aplicação) e aos 70 dias após a aplicação da mistura em partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento sem os fungos (Testemunha), em canteiro de produção de alface americana cultivar Lucy Brown, em estufa, no Município de Itápolis – SP..... 144
- 20 Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação à Testemunha, no solo e nas raízes, relativa às populações de nematóides, aos 70 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura em partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiro de produção de alface americana cultivar Lucy Brown, em estufa, no Município de Itápolis – SP..... 145
- 21 Média das massas de matéria fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR) de 10 plantas de alface americana cultivar Lucy Brown, coletadas aleatoriamente, aos 54 dias após o transplante, nas parcelas tratadas com 4 e 8 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em estufa de produção comercial, no Município de Itápolis – SP..... 147

- 22 Avaliação visual da percentagem de colonização por *Arthrobotrys oligospora* de diferentes substratos, compostos por diferentes subprodutos da agroindústria e indústria de bebida..... 150
- 23 Média do diâmetro (cm) da colônia dos contaminantes presentes no substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, plaqueados em BDA, após receber os tratamentos de esterilização em autoclave (120°C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação com 5; 25 e 50 kGy de raios gama, na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP, além do tratamento-testemunha (sem esterilização)..... 152
- 24 Média da percentagem de colonização visual e esporulação do substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, 21 dias após ser inoculado com *Arthrobotrys oligospora* depois de receber os tratamentos de esterilização em autoclave (120°C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação com 25 e 50 kGy de raios gama, na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP..... 154
- 25 Média da percentagem de colonização e esporulação do substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, 21 dias após ser inoculado com *Paecilomyces lilacinus* depois de receberem os tratamentos de esterilização em autoclave (120°C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação com 25 e 50 kGy de raios gama, na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP..... 155

- 26 Média da percentagem de predação de *Panagrellus* sp. por *Arthrobotrys oligospora*, 4 dias após a adição do nematóide às placas de Petri contendo a cultura do fungo em ágar-água 2%, após a multiplicação por 21 dias em substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, após receberem os tratamento de esterilização em autoclave (120 °C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação com 25 e 50 kGy de raios gama, na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP, além do tratamento-testemunha (sem esterilizar)..... 159
- 27 Médias da percentagem de colonização de ovos de *Meloidogyne javanica* por *Paecilomyces lilacinus*, 4 dias após a adição dos ovos às culturas do fungo em placa de Petri contendo ágar-água 2%, após a multiplicação em substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, esterilizados em autoclave (120°C a 1 atm por 40 minutos) ou irradiados com 25 e 50 kGy de raios gama, na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP, além do tratamento-testemunha (sem esterilização)..... 160
- 28 Médias, no solo e nas raízes, das populações iniciais de nematóides (Pi = antes da aplicação), aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção orgânica de tomate cereja cultivar Sindy, em estufa, no Município de Itápolis – SP..... 165

- 29 Médias da eficiência dos tratamentos (% de controle dos nematóides), em relação à Testemunha, no solo e nas raízes, aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, em canteiro de produção orgânica de tomate cereja cultivar Sindy, infestados, em estufa do Município de Itápolis – SP. 167
- 30 Médias da massa total de frutos de 10 plantas de tomateiro cereja cultivar Sindy, em canteiros de produção orgânica tratados com diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em estufa, no Município de Itápolis – SP..... 169
- 31 Médias, no solo e nas raízes, das populações inicial (P_i = antes da aplicação) de nematóides, aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção orgânica de quiabeiro cultivar Santa Cruz, no Município de Itápolis – SP..... 170
- 32 Média da eficiência (% de controle em relação à testemunha) dos tratamentos no solo e nas raízes, sobre as populações de nematóides, aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura em partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, em área de produção comercial orgânica de quiabo cultivar Santa Cruz, no Município de Itápolis – SP..... 172

- 33 Médias, no solo e nas raízes, das populações de nematóides inicial (P_i = antes da aplicação), aos 60 e 120 dias após a aplicação da mistura em partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactylella* sp., Aldicarb e o tratamento-testemunha, em pomar de goiabeira variedade Pedro Sato, com 5 anos, no Município de Monte Azul Paulista – SP..... 183
- 34 Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação à Testemunha, no solo e nas raízes, relativa às populações de nematóides, aos 60 e 120 dias após a aplicação da mistura em partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactylella* sp., Aldicarb e o tratamento-testemunha, em pomar de goiabeira variedade Pedro Sato, com 5 anos, no Município de Monte Azul Paulista – SP..... 185

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Placas de Petri contendo ágar-água a 2 %, com uma alíquota de uma amostra de solo, sobre a qual foi aplicada a suspensão de <i>Panagrellus</i> sp., utilizada como isca, para detecção, isolamento e identificação de fungos nematófagos predadores.....	26
2 Sintomas típicos produzidos por <i>Meloidogyne incognita</i> em raízes coletadas na região de Reginópolis – SP.....	35
3 Inóculo de fungo nematófago.....	37
4 Aplicação da mistura do arroz colonizado por <i>Arthrobotrys musiformis</i> e <i>A. oligospora</i> no canteiro de estufa infestada por <i>Meloidogyne incognita</i>	39
5 Aplicação de fungos nematófagos em parcelas de pimentão, em estufa, infestada por <i>Meloidogyne incognita</i>	41
6 Estufa de rosas na região de Andradas – MG infestada por <i>Meloidogyne hapla</i>	45
7 Vista geral do interior de uma estufa de alface americana na região de Itápolis-SP.....	47
8 Sintoma típico da infecção por <i>Meloidogyne incognita</i> em raízes de alface americana expresso na forma de galhas.....	48

9	Aplicação da mistura de arroz colonizado por <i>Arthrobotrys musiformis</i> e <i>A. oligospora</i> no canteiro experimental de alface americana cultivar Lucy Brown, infestado por <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Rotylenchulus reniformis</i>	50
10	Sintoma típico da infecção por <i>Meloidogyne incognita</i> em raízes de tomateiro expresso na forma de galhas.....	58
11	Aplicação da mistura do bagaço colonizado por <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i> , em canteiro experimental com tomate cereja cultivar Sindy, no Município de Itápolis - SP, infestado por <i>Meloidogyne incognita</i>	60
12	Tomateiros cereja cultivar Sindy, cultivadas em canteiros infestados por <i>Meloidogyne incognita</i> , previamente tratados com a mistura de bagaço de cana colonizado por <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i>	61
13	Área cultivada com quiabo orgânico na região de Itápolis – SP, com alta infestação por <i>Meloidogyne incognita</i> , utilizada para a condução do experimento sobre o controle biológico de nematóides com fungos nematófagos.....	63
14	Sintoma típico da infecção por <i>Meloidogyne incognita</i> em raízes de quiabeiro, na região de Itápolis - SP.....	64
15	Aplicação da mistura de partes iguais do substrato colonizado por <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i> na linha experimental a ser cultivada com quiabeiro cultivar Santa Cruz, na região de Itápolis-SP, em área infestada por <i>Meloidogyne incognita</i>	66

16	Raízes de goiabeira variedade Pedro Sato, exibindo galhas formadas por <i>Meloidogyne mayaguensis</i> , coletadas no Município de Monte Azul Paulista – SP.....	68
17	Plantas de goiabeira variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP.....	69
18	Folhas avermelhadas em goiabeira variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP, exibindo os sintomas típicos de alta infecção nas raízes por <i>Meloidogyne mayaguensis</i>	70
19	Ramos de goiabeira variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP.....	71
20	Folha avermelhada e fruto com tamanho reduzido, sintomas típicos de alta infecção de <i>Meloidogyne mayaguensis</i> nas raízes de goiabeira, variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP.	72
21	Reboleira em pomar de goiabeira, variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP, exibindo plantas que foram submetidas a uma poda drástica na tentativa de se controlar a população de <i>Meloidogyne mayaguensis</i>	74
22	Aplicação dos tratamentos na projeção da copa de goiabeira variedade Pedro Sato, infectada por <i>Meloidogyne mayaguensis</i> , na região de Monte Azul Paulista – SP.....	76
23	Produção de mudas de crisântemo de corte protegidas contra nematóides pela aplicação de fungos nematófagos no substrato.....	78

24	Fotomicrografias dos conídios de fungos nematófagos isolados de amostras de solo.....	82
25	Subpopulação de <i>Meloidogyne incognita</i> recuperada em parcelas de estufa utilizada para o estudo do controle biológico do nematóide com fungos nematófagos.....	104
26	Plantas de pimentão em estufa, coletadas 30 dias após o transplante das mudas em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas e não tratadas com os fungos nematófagos.....	105
27	Plantas de pimentão em estufa, coletadas 60 dias após o transplante em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas e não tratadas com os fungos nematófagos.....	107
28	Vista geral de experimento em estufa, aos 60 dias após o transplante das mudas de pimentão em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas e não tratadas com fungos nematófagos, exibindo plantas apresentando desenvolvimento satisfatório (setas) nas parcelas tratadas com os fungos, enquanto, nas parcelas não tratadas (testemunha), o desenvolvimento das plantas foi comprometido pela ação do nematóide.....	108
29	Médias da população de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ das amostras de solo das parcelas tratadas e não tratadas com os fungos nematófagos, aos 60; 120 e 180 dias após o transplante de pimentão.....	109

30 Média da população de ovos e juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes de plantas de pimentão das parcelas tratadas e não tratadas com fungos nematófagos, aos 60; 120 e 180 dias após transplântio.....	110
31 Produtividade média de pimentão, em caixa de 10 kg/m ² , nas parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas ou não com a mistura dos fungos nematófagos.....	114
32 Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos e não tratadas, aos 60 dias após o transplântio, em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i>	116
33 Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos, aos 120 dias após o transplântio, em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i>	118
34 Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos, aos 120 dias após o transplântio, em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i>	119
35 Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos, aos 180 dias após o transplântio, em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i>	120
36 Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas e não tratadas com fungos nematófagos, aos 180 dias após o transplântio, em canteiros infestados por <i>Meloidogyne incognita</i>	121

37	Eletromicrografias de varredura de nematóides capturados por diferentes estruturas de captura formadas sobre o micélio de fungos nematófagos.....	128
38	Subpopulação de <i>Meloidogyne hapla</i> recuperada de raízes de roseira.....	136
39	Fotomicrografias de fêmeas jovens de <i>Rotylenchulus reniformis</i> ilustrando os caracteres morfológicos marcantes ao microscópio óptico composto.....	142
40	Aspecto da colonização do solo por fungos nematófagos uma semana após a aplicação.....	143
41	Plantas de alface americana 'Lucy Brown' produzidas em estufa, na região de Itápolis – SP, infestada por <i>Meloidogyne incognita</i>	146
42	Média das massas de matéria fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR) de 10 plantas de alface americana cultivar Lucy Brown, coletadas aleatoriamente nas parcelas, aos 54 dias após o transplante nas parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas com 4 ou 8 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado por <i>Arthrobotrys musiformis</i> e <i>A. oligospora</i> e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de estufa destinada à produção comercial, no Município de Itápolis – SP.....	148
43	Plantas de alface americana 'Lucy Brown' produzidas em estufa, na região de Itápolis – SP, infestada por <i>Meloidogyne incognita</i>	149
44	Fotomicrografias de <i>Arthrobotrys oligospora</i>	157
45	Fotomicrografias de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	158

46	Fotomicrografias de fêmeas adultas de <i>Pratylenchus brachyurus</i> ilustrando os caracteres morfológicos marcantes para a identificação da espécie, documentados ao microscópio óptico composto.....	162
47	Fotomicrografias de fêmeas adultas de <i>Pratylenchus zae</i> ilustrando os caracteres morfológicos marcantes ao microscópio óptico composto para a identificação da espécie.....	163
48	Fotomicrografia de uma fêmea adulta de <i>Helicotylenchus dihystra</i>	164
49	Plantas de quiabeiro orgânico em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas (T) com a mistura dos fungos nematófagos e sem tratar – NT (Testemunha), aos 25 dias após o transplântio, na região de Itápolis – SP.....	173
50	Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, em parcelas infestadas com <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas com a mistura de fungos nematófagos (T), bem desenvolvidas e exibindo expressiva massa foliar e Testemunha (não tratada = NT), com desenvolvimento comprometido e pouca massa foliar, aos 62 dias após o transplântio, no Município de Itápolis – SP.....	174
51	Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, em parcelas infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> e tratadas com a mistura de fungos nematófagos (T) bem desenvolvidas e Testemunha (não tratada = NT) com desenvolvimento comprometido, aos 62 dias após o transplante, no Município de Itápolis – SP.....	175

- 52 Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, em parcelas tratadas com a mistura de fungos nematófagos (T) e Testemunha (não tratada = NT), aos 62 dias após o transplante..... 176
- 53 Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, retiradas de parcela Testemunha (não tratada = NT), apresentando desenvolvimento comprometido, poucas folhas e raízes tomadas por galhas causadas por *Meloidogyne incognita*, enquanto as plantas, como a da direita (T), retiradas de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos, estão bem desenvolvidas, com muitas folhas e sem galhas nas raízes, aos 62 dias após o transplante..... 178
- 54 Planta de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, retirada de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos (T), está bem desenvolvida e sem galhas nas raízes. Enquanto a planta retirada de parcela Testemunha (não tratada = NT), está com desenvolvimento menor e as raízes tomadas por galhas causadas por *Meloidogyne incognita*, aos 123 dias após o transplante, em canteiros infestados, na região de Itápolis – SP..... 179
- 55 Sistemas radiculares de plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, retiradas de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos (T) sem galhas nas raízes, enquanto o sistema radicular de planta retirada de parcela-testemunha (não tratada = NT), está completamente tomado por galhas formadas por *Meloidogyne incognita*, aos 123 dias após o transplante, em parcelas infestadas, no Município de Itápolis – SP..... 180
- 56 Subpopulação de *Meloidogyne mayaguensis* recuperada de raízes de goiabeira..... 182

57 Subpopulação de <i>Meloidogyne javanica</i> recuperada de raízes de crisântemo de corte.....	187
58 Cultura de crisântemo de corte em estufa com canteiros infestados por <i>Meloidogyne javanica</i> apresentando sintomas.....	188
59 Canteiro infestado por <i>Meloidogyne javanica</i> nos quais foram plantadas mudas de crisântemo de corte produzidas em substrato tratado com coquetel de fungos nematófagos.....	189

ESTUDO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATÓIDES COM FUNGOS NEMATÓFAGOS

RESUMO – O interesse pelo controle biológico de nematóides vem aumentando ano após ano, estimulado pelas crescentes restrições ao uso de agrotóxicos. Entre os agentes do controle biológico de nematóides, os fungos predadores vêm se destacando, dada a facilidade de crescimento em meios artificiais e substratos diversos e a comprovada eficácia. No presente estudo, confirmou-se que espécies de *Arthrobotrys* e de *Monacrosporium* estão entre os fungos nematófagos mais comuns nos solos do Brasil. Esses fungos crescem em subprodutos da agroindústria, potencializando a formulação desses agentes a baixo custo e pode tornar-se o recurso mais vantajoso para o manejo de nematóides em cultivos de hortifrutigranjeiros em volta de centros urbanos. Bagaço de cana misturado com farelo de arroz, na proporção de 2:1, é um substrato adequado à formulação de fungos nematófagos. Para o cultivo de alface, uma única aplicação, antes do plantio, é suficiente para o manejo dos nematóides. A adição de formulações dos fungos ao substrato para a produção de mudas pode facilitar a utilização desse recurso, e formulações contendo mais de uma espécie com habilidades predatórias diferentes, incluindo parasitos de ovos, podem ser mais eficazes que formulações de uma única espécie. A especificidade dos fungos dificulta o comércio de formulações desses agentes, dado o risco de comprometimento à credibilidade dos produtos, se formulações não-específicas para os nematóides que ocorrem em certas áreas, forem utilizadas. Por conseguinte, as formulações desses agentes são mais adequadas para a distribuição assistida, já que os nematóides que ocorrem nos locais onde serão empregadas, podem ser previamente identificados.

Palavras-Chave: *Arthrobotrys* spp., *Dactylella* spp., formulação, *Meloidogyne* spp., *Paecilomyces lilacinus*, *Rotylenchulus reniformis*

BIOLOGICAL CONTROL STUDY OF PHYTONEMATODES WITH NEMATOPHAGOUS FUNGI

SUMMARY – The interest in the biological control of nematodes is increasing year after year, stimulated by the increasing restrictions to the use of chemical defensives. Among the agents for the biological control of nematodes, the predators fungi have become the group of higher interest since they grow easily on different kinds of material and they also present known efficacy. In the present study, it was demonstrated that species of *Arthrobotrys* and *Monacrosporium* are among the most common nematophagous fungi in Brazilian soils. These fungi grow on by-products of the agroindustry, making formulations of these agents of low cost and can become the most advantageous resource for the nematode control in vegetable production areas around urban centers in Brazil. Sugar cane bagasse mixed with rice bran in the ratio of 2:1 is an adequate substratum for the formulation of nematophagous fungi. For the lettuce culture, only one application, before the planting date, is enough for the control of nematodes. The addition of fungi to the substratum for the production of seedlings in nurseries can facilitate the use of this resource. Formulations containing more than one species with different predatory abilities, including egg parasites, can be more efficient than formulations with only one species. The specificity of the fungi makes difficult the commerce of formulations of these agents, since the risk of unsuccessful use can put down the credibility on the products, if non-specific formulations for the nematodes that occur in certain areas are used. Therefore, the formulations of these agents are more suitable for attended distribution, since the nematodes that occur in places where the formulation will be used can be previously identified.

Keywords: *Arthrobotrys* spp., *Dactylella* spp., formulation, *Meloidogyne* spp., *Paecilomyces lilacinus*, *Rotylenchulus reniformis*

I. INTRODUÇÃO

Os fitonematóides causam perdas anuais médias à produção agrícola mundial estimadas em 12%, correspondendo a bilhões de dólares de prejuízo (SASSER & FRECKMAN, 1987). Praticamente, todas as espécies de plantas cultivadas sofrem danos causados por, pelo menos, uma espécie de nematóide. Algumas culturas, inclusive, são hospedeiras de várias espécies. A maioria dos nematóides ataca, principalmente, partes subterrâneas, como raízes, bulbos, tubérculos e rizomas. Outras espécies causam danos em partes aéreas, como caules, folhas e sementes. Alguns são disseminados em sementes e, historicamente, desde o Brasil Império, mudas de cafeeiro foram a principal via de disseminação dessas pragas da cafeicultura (GOELDI, 1892).

Os nematóides mais comuns no Brasil, associados a hortifrutícolas são do grupo dos nematóides de galha (*Meloidogyne* spp.). Esses nematóides causam alterações em partes subterrâneas das plantas hospedeiras visíveis na forma de caroços chamados de galhas. Além de provocarem essas alterações nas raízes, também reduzem a absorção e o transporte de água e nutrientes, comprometendo ou, em casos extremos, inviabilizando o cultivo.

Os nematóides de galha estão entre os patógenos mais freqüentes nos cultivos protegidos. Podem, inclusive, inviabilizar o cultivo de hortaliças e outras em estufas. Com efeito, salvo a fumigação do solo, não se dispunha de outras medidas de manejo de nematóides para a maioria dos cultivos protegidos. Como os solos nessas condições são intensivamente cultivados com culturas suscetíveis, as populações dessas pragas alcançam níveis limitantes. Além disso, as condições mais estáveis de temperatura e umidade também favorecem o aumento da população dos nematóides, se comparadas às condições de cultivo a campo.

A área de produção de hortaliças em ambiente protegido no Brasil é estimada em 1.390 ha (VECCHIA & KOCH, 1999) e, segundo as estimativas do Instituto Biodinâmico, maior certificador de orgânicos no País, o mercado nacional movimentou US\$ 200 milhões por ano, sustentado por mais de 7 mil produtores em 270 mil ha de agricultura e pecuária orgânicas (ESCOBAR, 2002).

O sucesso econômico e ecológico do manejo dos fitonematóides requer a adoção de medidas de manejo combinadas, tais como medidas de exclusão, rotação de culturas, utilização de plantas antagonistas, controle químico, variedades resistentes, controle biológico e outras. Dessas, o controle biológico dos nematóides, empregando fungos nematófagos, vem despertando notável interesse tanto no Brasil quanto em outros países (BARRON, 1977; FATTAH, 1988; DAVIDE et al., 1990; SANTOS, 1991 e 1996; LIMA, 1996; MAIA et al., 2001; CORBANI, 2002; BERNARDO, 2002). Contudo, ainda é uma das alternativas menos estudadas, visto que poucos profissionais têm se dedicado a esse campo. As pesquisas na área, em sua maioria, têm focado, apenas, a detecção de agentes potenciais do controle biológico, em que pesem as evidências favoráveis ao sucesso da utilização dessa alternativa na prática. Poucos são os estudos realizados em condições de campo (STIRLING, 1991).

O controle biológico dos nematóides apresenta inúmeras vantagens em relação ao controle químico, dentre as quais se destacam: 1) não causa efeito danoso ao ambiente; 2) não deixa resíduos nos produtos colhidos; 3) é a alternativa mais adequada em certas circunstâncias, notadamente em parques e jardins de áreas urbanas; 4) não favorece o surgimento de formas resistentes dos nematóides; 5) não causa desequilíbrio na biota do solo, com conseqüente ressurgimento do problema com maior severidade; 6) potencialmente, pode transformar um solo conducente em supressivo; 7) tem menor custo; 8) é de fácil aplicação.

O controle biológico tem enorme potencial de uso nos cultivos protegidos, hortas e agricultura orgânica, assim como em parques e jardins em áreas urbanas. Consiste na redução da população do nematóide pela ação de outro organismo vivo, que ocorre naturalmente no solo, ou através da manipulação do ambiente, incluindo a introdução de organismos antagonistas.

Mais de 200 diferentes organismos são considerados inimigos naturais dos fitonematóides. Fungos, bactérias, nematóides predadores, ácaros, entre outros, têm sido encontrados predando ou parasitando nematóides (POINAR & JAHNSSON, 1988a, 1988b; KERRY, 1990; STIRLING, 1991; SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996). Entre esses, os fungos têm se destacado como agentes potenciais para o controle biológico (DIJKSTERHUIS et al., 1994). Cerca de 75% dos antagonistas já identificados são fungos encontrados normalmente nos solos e inofensivos às culturas. Parasitam ovos, predam juvenis, adultos ou cistos, ou ainda produzem substâncias tóxicas aos nematóides (JATALA, 1986; VAN GUNDY, 1985 citado por SANTOS, 1991; STIRLING, 1991). Um grande número de espécies de fungos nematófagos de diferentes gêneros é capaz de capturar nematóides, constituindo o grupo de inimigos naturais mais estudado. São conhecidos cerca de 70 gêneros e 160 espécies com a habilidade de usar nematóides em sua alimentação (QADRI, 1989; FERRAZ et al., 2001).

Projetos recentes desenvolvidos na UNESP/FCAV (MAIA, 2000; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002), alguns com suporte da FAPESP, evidenciaram a possibilidade de passarmos à prática, inclusive com a introdução no mercado de formulações comerciais à base dos fungos nematófagos em pouco tempo (FAPESP, 2002; SOARES et al., 2005a; 2005b; SOARES & SANTOS, 2005).

Em face dessas informações, o presente estudo foi conduzido com os seguintes objetivos: 1) Montar uma coleção de isolados de fungos nematófagos de diferentes regiões do Estado de São Paulo e do Brasil; 2) Estudar a viabilidade de produção massal de fungos nematófagos em diferentes substratos, incluindo subprodutos da indústria de bebidas e alimentos; 3) Avaliar diferentes formas de tratamento dos substratos para serem utilizados na formulação dos fungos nematófagos, e 4) Avaliar a eficácia do controle biológico de alguns nematóides com fungos nematófagos em cultivos protegidos e orgânicos.

II. REVISÃO DE LITERATURA

Os fungos são considerados a maior biomassa microbiana em muitos solos (CLARK & PAUL, 1970). Muitos estão associados aos nematóides na rizosfera e freqüentemente são capazes de destruí-los em quase todos os solos das diferentes regiões geográficas do mundo (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996). São também conhecidos como os fungos nematófagos, pois atacam os nematóides vivos e/ou ovos, utilizando-os como fonte de nutrientes (MANKAU, 1980a). Uma grande variedade e diversidade de gêneros e espécies de fungos nematófagos ocorrem naturalmente nos solos. Em uma pesquisa na Irlanda, GRAY (1983) observou que os fungos nematófagos foram encontrados em diferentes habitats examinados, tais como: pasto permanente, nos restos de folha e na vegetação litorânea, onde foram mais freqüentes e abundantes.

O primeiro fungo nematófago isolado e descrito foi *Arthrobotrys oligospora* Fresenius, em 1852 (GRAY, 1988). Pesquisas com fungos que destroem nematóides tiveram início há mais de 130 anos, com observações feitas por Lodhe em 1874, com o fungo endoparasito *Harposporium anguillulae* Lohde, conforme menção de NOVARETTI (1986). O aumento do interesse pelo controle biológico de nematóides ocorreu após a demonstração de que algumas espécies de fungos endoparasitos impediam o aumento da população do nematóide *Heterodera avenae* Wollenweber e reduziam a população de nematóides causadores de galhas (JATALA et al., 1981; KERRY et al., 1982). No Brasil, os primeiros registros relativos ao controle biológico de nematóides foram feitos por ALCÂNTARA & AZEVEDO (1981), que isolaram alguns fungos a partir de nematóides infectados.

Os fungos nematófagos, em sua grande maioria, são mitospóricos. Contudo, antigamente, eram classificados na divisão Deuteromycetes, classe Hyphomycetes,

ordem Hyphomycetales e família Moliniaceae (BARRON, 1977). Apresentam micélio septado e bem desenvolvido, reproduzindo-se agamicamente por esporos exógenos que são formados sobre ramificações do micélio (DRECHSLER, 1937). Até 1964, a maioria dos fungos nematófagos era classificada como pertencentes aos gêneros *Arthrobotrys* Corda, *Dactylaria* Saccardo, *Dactylella* Grove e *Trichothecium* Pers. Posteriormente, vários novos gêneros foram descritos, incluindo *Duddingtonia* Dudd. & Cooke, *Monacrosporium* Oudemans, *Genicularia* De Bari e *Dactylariopsis* Gray. Recentemente, estádios de reprodução sexuada desses fungos foram observados para algumas espécies que estão sendo reconhecidas como pertencentes ao filo Ascomycota (GRIFFIN, 1994).

De acordo com a estratégia utilizada para capturar os nematóides, eles podem ser classificados em ectoparasitos ou predadores, por capturar os nematóides utilizando hifas modificadas na forma de armadilhas. Endoparasitos, por parasitar os nematóides utilizando pequenos conídios que penetram pelas aberturas naturais do corpo dos nematóides. Os oportunistas ou ovícidas parasitam ovos e cistos e, por último, aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides (MORGAN-JONES & RODRIGUEZ-KÁBANA, 1987; JANSSON et al., 1997).

2.1. Fungos Ectoparasitos ou Predadores

Existem mais de 50 espécies de fungos nematófagos predadores que são capazes de capturar e matar os nematóides no solo (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996; DIJKSTERHUIS et al., 1994). Esses fungos têm sido classificados principalmente em alguns gêneros de Hyphomycetes, que podem ser suscetíveis ou não ao antagonismo de outros fungos do solo (COOKE, 1964).

Os fungos nematófagos predadores são os mais promissores, destacando-se pela facilidade de se estabelecerem no solo, pelas suas habilidades saprofíticas, além da facilidade de crescimento *in vitro*, despertando, com isso, o interesse de vários pesquisadores em todo o mundo (GRAY, 1988). Essa habilidade saprofítica dos fungos nematófagos predadores foi comprovada por TIMPER et al. (1999), onde um fungo não

identificado, nomeado de ARF (“Arkansas fungus”), apresentou crescimento micelial em solo não esterilizado sem a presença do nematóide hospedeiro. Em outro estudo, foi concluído que esse mesmo fungo possivelmente utiliza os restos de cultura no solo para sobreviver por um extenso período de tempo, na ausência dos nematóides (WANG et al., 2004).

Os principais gêneros de fungos predadores conhecidos são: *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactylella* e *Monacrosporium*, conforme menção de MANKAU (1980b). As espécies de *Arthrobotrys* são consideradas um dos grupos mais importantes de fungos nematófagos, inclusive são intensamente estudadas em relação a sua ecologia e patofisiologia, sendo, freqüentemente, incluídos nas pesquisas de manejo de nematóides (DIJKSTERHUIS et al., 1994; SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996). Os fungos predadores possuem rápido crescimento e desenvolvimento micelial intenso que são dois atributos fundamentais para se disseminarem e sobreviverem no ambiente natural (DACKMAN et al., 1987). Esses fungos produzem estruturas especializadas para a captura dos nematóides, ao longo das hifas, genericamente referidas como armadilhas. Essas estruturas podem ser adesivas ou não (NORDBRING-HERTZ, 1972) e aprisionam os nematóides. Após a captura, independentemente da armadilha utilizada, as hifas penetram na cutícula, colonizam e consomem o conteúdo interno dos nematóides. Em seguida, emitem para o meio externo as suas estruturas vegetativas e reprodutivas (BARRON, 1977; GRAY, 1987). Essas estruturas podem ser formadas espontaneamente (BLACKBURN & HAYES, 1966) ou serem produzidas em resposta a estímulos diversos, tais como substâncias liberadas no meio pelos nematóides (NORDBRING-HERTZ, 1973), escassez de água e/ou nutrientes (BALAN & GERBER, 1972), motilidade, uma vez que, quanto maior for a motilidade dos nematóides, maior o estímulo para o fungo produzir as armadilhas (JANSSON & NORDBRING-HERTZ, 1980) e o chamado ritmo endógeno, onde as hifas vegetativas, ao crescerem, são ritmicamente predispostas para produção dessas armadilhas (LYSEK & NORDBRING-HERTZ, 1981).

Algumas espécies de fungos nematófagos predadores desenvolvem estruturas de captura como resultado de estímulos externos, enquanto outras são desenvolvidas

espontaneamente, sendo, portanto, mais dependentes de nematóides como fonte de nutrientes. As espécies que formam armadilhas espontaneamente, são mais abundantes em solo contendo disponibilidade de matéria orgânica, conferindo vantagens sobre as espécies que não formam armadilhas espontaneamente, em solos com fauna e flora microbiana ricas (GRAY, 1985). Essa observação sugere que o fungo nematófago que tem a habilidade de formar armadilhas, espontaneamente, pode oferecer uma vantagem competitiva sobre outro fungo cujas armadilhas não são formadas espontaneamente.

São conhecidos sete tipos de armadilhas: redes adesivas tridimensionais, redes adesivas bidimensionais, nódulos adesivos, ramos adesivos, anéis constritores constituídos por três células que se dilatam e estrangulam o nematóide, anéis não constritores, cujas células que os formam, não se dilatam e as hifas adesivas não modificadas, as quais se aderem ao corpo dos nematóides. Além desses tipos de armadilhas, também ocorre a penetração direta do fungo pela cutícula do nematóide, envolvendo ação mecânica (pressão) e algumas variantes dessas armadilhas, conforme ilustrado por MAIA (2000) e SOARES & SANTOS (2006).

As armadilhas podem ter ação ativa ou passiva e serem ou não recobertas por substâncias adesivas. A armadilha em forma de anéis pode ter ação ativa (constritores) e passiva (não-constritores). Os anéis constritores, através da dilatação de suas células, apreendem os nematóides, promovendo o estrangulamento dos mesmos em menos de 0,1 segundo, a exemplo do que ocorre em *Arthrobotrys dactyloides* Drechsler e *Dactylaria brochopaga* Drechsler, além de outros (RUBNER, 1996; JACOBS, 2006). Os anéis não-constritores têm ação passiva. São revestidos por uma substância adesiva que impede os nematóides capturados de se libertarem, facilitando o processo de infecção, como ocorre em *Dactylaria candida* (Nees) Saccardo e *Dactylella leptospora* Drechsler que, além desse tipo de armadilha, também produzem nódulos adesivos (RUBNER, 1996; JACOBS, 2006). Ainda no início da infecção, os nematóides se movimentam a curta distância, o que favorece a disseminação do fungo no ambiente (BARRON, 1977).

Devido ao aprisionamento do nematóide, ocasionado pela dilatação das células do anel constritor formado pelo fungo, revestido por uma camada adesiva superficial, os nematóides, ao entrarem nos anéis, em geral se retorcem e não conseguem sair. A composição da cutícula varia entre as diferentes espécies de nematóides, notadamente quanto aos tipos de açúcares (lecitinas), determinando a especificidade dos fungos nematófagos aos seus respectivos hospedeiros (NORDBRING-HERTZ & MATIASSON, 1979; ROSENZWEIG & ACKROYD, 1983).

O processo de infecção inicia-se no momento do contato da estrutura de captura do fungo predador com o nematóide, o qual é atraído e apreendido nas estruturas especializadas (TUNLID et al., 1992a). Para facilitar o processo de infecção, substâncias hidrolíticas, produzidas pelo fungo, auxiliam na imobilização do nematóide. A seguir, um bulbo é formado no ponto de contato com o corpo do nematóide, e o crescimento da hifa se inicia. Em pouco tempo, todo o corpo do nematóide, interna e externamente, pode ser tomado pelo crescimento de hifas, levando à sua morte (PADILHA & SAMUEL, 2000). Dependendo da espécie de *Arthrobotrys* em questão, os juvenis do nematóide são atraídos e capturados nas armadilhas adesivas ou não (JANSSON & NORDBRING-HERTZ, 1979; 1980). Depois do contato inicial entre o nematóide e o fungo, o processo de infecção se inicia com uma série de eventos bioquímicos, tais como: ativação de receptores de lecitina, modificação de polímeros na superfície de contato, ativação de enzimas específicas e produção de substâncias hidrolíticas (NORDBRING-HERTZ & MATIASSON, 1979; BORREBAECK et al., 1984, 1985; NORDBRING-HERTZ, 1988; TUNLID & JANSSON, 1991; ROSÉN et al., 1992; TUNLID et al., 1992b). Então, o fungo penetra o corpo do nematóide, forma um bulbo logo abaixo da cutícula e inicia o crescimento micelial, que ocupa todo o corpo do nematóide, alterando suas funções vitais e causando sua morte (DRECHSLER, 1937). O mecanismo envolvido na colonização do nematóide e na digestão do conteúdo do corpo é similar entre os fungos nematófagos (WIMBLE & YOUNG, 1984; VEENHUIS et al., 1989; DIJKSTERHUIS et al., 1991).

Espécies de *Arthrobotrys*, tais como *A. oligospora*, são exemplos de fungos predadores que produzem extensas ramificações miceliais e órgãos de captura que

prendem os nematóides (LIMA, 1996). O desenvolvimento de armadilhas pode ser considerado um mecanismo de sobrevivência complementar, que confere ao fungo uma certa vantagem para competir com outros organismos em condições adversas do ambiente (DIJKSTERHUIS et al., 1990).

Vários autores têm constatado a ocorrência de fungos predadores em diferentes agroecossistemas do Brasil (NAVES & CAMPOS, 1991; DALLA PRIA et al., 1991; LIMA, 1996; RIBEIRO et al., 1999; COIMBRA et al., 1999; MAIA, 2000; SANTOS & FERRAZ, 2000; RIBEIRO et al., 2003). Com efeito, tem sido observado que eles colonizam a rizosfera de várias espécies de plantas (PETERSON & KATZNELSON, 1965; GASPARD & MANKAU, 1987).

Os fungos nematófagos predadores podem apresentar conídios de diferentes tamanhos, coloração, forma e resistência a condições do ambiente. A maioria dos fungos nematófagos apresenta conídios secos, emergindo de estruturas de frutificação denominadas conidióforos, essenciais na dispersão dos conídios. Os conidióforos crescem verticalmente, em direção perpendicular ao substrato utilizado no cultivo do isolado. Algumas espécies produzem conidióforos contendo apenas um conídio em sua extremidade, como, por exemplo, *Monacrosporium robustum* McCulloch. Outras espécies apresentam cachos de conídios em toda a estrutura do conidióforo, como, por exemplo, *Arthrobotrys oligospora*. Também podem ser produzidas estruturas denominadas de clamidósporos, que são estruturas de parede espessa, diferenciada a partir de hifas, que aparecem em condições de estresse extremo e podem dar origem a hifas, conidióforos e conídios (BARRON, 1977).

2.2. Fungos Endoparasitos

Os fungos nematófagos endoparasitos são parasitos obrigatórios de nematóides, possuem fase saprofítica limitada e geralmente passam à parte vegetativa do ciclo de vida dentro do hospedeiro. Após a digestão do conteúdo do corpo do hospedeiro, em alguns endoparasitos, são formados conidióforos do lado de fora da cutícula do nematóide, onde são observados numerosos conídios (BARRON, 1977). Somente após

a maturação desses conídios ocorre infecção de outros nematóides. Os nematóides são infectados, também, após a adesão dos conídios à cutícula ou após a ingestão de minúsculos conídios (BARRON, 1977). Então, são desenvolvidas hifas responsáveis pela absorção do conteúdo interno do corpo do nematóide. Esses fungos penetram no corpo do nematóide através de aberturas naturais ou mesmo pela cutícula (ASCHNER & KOHN, 1958). Porém, os nematóides parasitos de plantas são incapazes de ingerir estes conídios, em função da anatomia da região anterior do esôfago (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996).

O fungo nematófago endoparasito *Drechmeria coniospora* (Drechsler) Gams e Jansson infecta os nematóides através do conídio maduro e livre (BARRON, 1977) que adere à cutícula por meio de uma substância adesiva (JANSSON & NORDBRING-HERTZ, 1983; 1984). Estudos prévios da infecção do nematóide de vida livre *Panagrellus redivivus* Goodey, utilizando microscópios óptico composto e eletrônico de varredura, evidenciaram que a adesão do conídio ocorre preferencialmente nas regiões anterior (fêmeas, machos e juvenis) e posterior (somente dos machos), próximo aos órgãos sensoriais (JANSSON & NORDBRING-HERTZ, 1983). A penetração da cutícula pode ser o resultado simultâneo do enfraquecimento através da ação enzimática e da aplicação de força mecânica (DIJKSTERHUIS et al., 1990). Subseqüentemente, um apressório é formado (SAIKAWA, 1982), que é um pré-requisito para a penetração na cutícula do nematóide (DIJKSTERHUIS et al., 1990). Após a penetração, o corpo do nematóide é colonizado por hifas. A morfologia celular da hifa nesse estágio de infecção é caracterizada pela presença de numerosas gotas de lipídeo muitas vezes associadas a pequenos grânulos. Dentro de 40-48 horas, conidióforos são formados na parte externa do cadáver do nematóide sobre os quais são formados numerosos conídios (JANSSON et al., 1984; DIJKSTERHUIS et al., 1991). Todas as fases do processo de infecção dão suporte à hipótese de que a principal estratégia desses fungos é garantir a rápida e massiva produção de conídios no hospedeiro (DIJKSTERHUIS et al., 1991).

As tentativas de multiplicação de fungos endoparasitos que produzem nódulos adesivos em grandes quantidades para introdução no solo, podem não ser bem-sucedidas devido ao crescimento limitado desses fungos em cultura. Além disso, sua

fraca habilidade saprofítica e competitiva e a difícil esporulação em meio artificial podem limitar seu estabelecimento em um novo ambiente (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996).

A habilidade do conídio de algumas espécies de atraírem nematóides (JANSSON, 1982 a, b) tem sido considerada de significativa importância ecológica para esses fungos. Uma espécie de *Harposporium* Lohde produz conídios que se alojam na abertura oral ou intestino do nematóide hospedeiro, iniciando a infecção.

O uso de fungos nematófagos endoparasitos, como *Drechmeria coniospora*, apresentou resultados promissores para o controle biológico de nematóides (TOWNSHEND et al., 1989). *Hirsutella rhossiliensis* Minter & Brandy, outro endoparasito, também tem apresentado habilidade em reduzir a população de nematóides (TEDFORD et al., 1993; TIMPER & BRODIE, 1994), apesar de ter sido observada variabilidade entre isolados do mesmo fungo (TEDFORD et al., 1994). Em outro estudo, verificou-se o efeito do micélio de um isolado do fungo endoparasito *Hirsutella minnesotensis* Chen, Liu & Chen, na redução de diferentes populações de *M. hapla* Chitwood em casa de vegetação, variando de 61 a 98% (MENNAN et al., 2006). Dois outros endoparasitos que produzem esporos flagelados (*Catenaria auxiliaris* (Kuhn) Tribe e *Nematophthora gynophila* Kerry & Crump possuem papel importante na regulação da dinâmica de populações de *Heterodera schachtii* Schmidt e *H. avenae* Wollenweber em alguns solos (CRUMP et al., 1983; KERRY et al., 1980).

Catenaria anguillulae Sorokin é amplamente distribuído no solo (PERSMARK et al., 1995; VAISH & SINGH, 2002). Possui tanto habilidade parasita sobre os nematóides, como saprofítica, denotando seu alto potencial de controle biológico (SINGH et al., 1996). Algumas outras espécies de fungos endoparasitos consideradas importantes no biocontrole são encontradas nos gêneros *Acrostalagmus* Corda, *Harposporium*, *Myzocyttium* Schenk e *Haptoglossa* Cope, entre outros (MORGAN-JONES & RODRIGUEZ-KABANA, 1987).

2.3. Fungos Oportunistas ou Ovicidas

Os fungos nematófagos oportunistas ou ovicidas estão entre os mais promissores. Como os fungos predadores, destacam-se pela facilidade de se estabelecerem no solo, pelas suas habilidades saprofíticas, além da facilidade de crescimento *in vitro*. Também exibem acentuado crescimento na rizosfera. Os cistos e ovos dos nematóides liberados no solo são vulneráveis à deterioração e colonização por diferentes agentes, despertando o interesse de vários pesquisadores.

Os fungos ovicidas consomem todo o conteúdo dos ovos. Ao estabelecer um contato com o ovo, as hifas fixam-se na parede externa e produzem quitinase, rompendo o complexo quitina-proteína, possibilitando a penetração e colonização de todo o conteúdo interno (BARRON, 1977). Uma vez em contato com cistos ou massa de ovos, esses fungos crescem rapidamente e, em geral, parasitam todos os ovos ao redor. Às vezes, fungos predadores também colonizam ovos de nematóides externamente. Suas hifas podem envolvê-los, inclusive exercendo pressão sobre eles. Como esses fungos não produzem quitinase, não ocorre a penetração. Entretanto, havendo a eclosão do juvenil de segundo estágio, esse será imediatamente capturado. Os nematóides de cisto e os de galha são mais vulneráveis à ação desses fungos, uma vez que produzem os ovos em aglomerados, quer nos cistos, quer em massas externas às raízes, facilitando a colonização de todos eles. Acredita-se que os fungos parasitos de ovos sejam mais eficazes no biocontrole de nematóides que os outros grupos. Apesar de um expressivo número de fungos parasitos de ovos serem conhecidos, apenas *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson e *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams (sinonímia *Verticillium chlamydosporium*) têm sido exaustivamente estudados por diversos pesquisadores, devido a sua comprovada eficácia (MANKAU, 1980b; JATALA et al., 1980; SIDDIQUI & MAHMOOD, 1995; ATKINS et al., 2003).

2.3.1. *Paecilomyces lilacinus*

Paecilomyces lilacinus, pertence à classe Hyphomycetes. É um fungo parasito de ovos e cistos e trata-se de um oportunista com muito pouca especificidade de hospedeiros, embora os diferentes isolados em geral difiram na sua habilidade para parasitar os ovos e os cistos de diferentes espécies de nematóides (GOETTEL et al., 2001). *Paecilomyces lilacinus* é um saprófita capaz de utilizar grande faixa de substratos (DOMSCH et al., 1980). Em teste *in vitro*, avaliando a habilidade de um isolado desse fungo em crescer e inibir o crescimento de *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Chaetomium globosum* Kunze ex Fries, *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Penicillium bilaii* Chalab and *Trichoderma harzianum* Rifai, esse fungo mostrou-se mais competitivo comparado a *Plectosphaerella cucumerina* (Lindfors) Gams e *Pochonia chlamydosporia* (= *Verticillium chlamydosporium*) a 10 e 20 °C (JACOBS et al., 2003). *Paecilomyces lilacinus* cresce bem às temperaturas entre 15 e 30 °C, com ótimo entre 25 e 30 °C. Sua adaptabilidade a uma ampla faixa de pH do solo torna-o um organismo competitivo em solos agricultáveis. Além disso, *P. lilacinus* é compatível com muitos fungicidas e nematicidas (VILLANUEVA & DAVIDE, 1983; JACOBS et al., 2003). Esse fungo, quando aplicado ao solo, se estabelece, cresce e dissemina-se rapidamente e, em curto período de tempo, torna-se a espécie dominante. Em testes de laboratório, infectou ovos de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e destruiu os embriões em curto espaço de tempo (JATALA, 1986), confirmando sua eficácia como agente do biocontrole.

O processo de infecção de ovos de *Meloidogyne* spp. por *P. lilacinus* inicia-se com o crescimento da hifa do fungo sobre a gelatina que recobre a massa de ovos do nematóide. A colonização dos ovos aparenta ocorrer pela simples penetração da parede do ovo por uma hifa individual, auxiliada por atividades mecânicas e/ou enzimáticas (JATALA, 1986). A protease serina produzida por *P. lilacinus* possui um papel importante na penetração do fungo através da cutícula dos ovos dos nematóides (BONANTS et al., 1995). Após a penetração, em curto espaço de tempo, os ovos são completamente colonizados pelo fungo. Esse fungo penetra nos ovos de *Meloidogyne*

spp. mais rapidamente que nos de *Globodera* spp. ou de *Nacobbus* spp. Várias pesquisas foram desenvolvidas e resultaram na obtenção de dados sobre o comportamento do fungo em diversas localidades ao redor do mundo. Segundo JATALA (1986), os resultados da aplicação de *P. lilacinus* a campo, em algumas fazendas no Peru, evidenciaram a eficácia do fungo no controle de *M. incognita* em diferentes culturas e de *T. semipenetrans* Cobb, em citros.

Culturas de *P. lilacinus* foram enviadas para pesquisadores em 46 países, através do International *Meloidogyne* Project (ESSER & EL-GHOLL, 1993), possibilitando a divulgação do conhecimento sobre o fungo. Várias pesquisas foram desenvolvidas e resultaram na obtenção de dados sobre o comportamento do fungo em diversas localidades do mundo (JATALA, 1985).

Um estudo evidenciou que as folhas de *Calotropis procera* (Aiton) Aiton adicionadas ao solo junto com *P. lilacinus* foram mais efetivas do que todos os outros materiais orgânicos usados de forma integrada, tendo como resultado o aumento do crescimento da planta, redução da população do nematóide e redução do número de galhas nas raízes, além do aumento do parasitismo do fungo sobre o nematóide (AHMAD & KHAN, 2004). Vários pesquisadores no Brasil têm estudado a eficácia desse fungo no biocontrole de nematóides, especialmente *M. javanica* (CAMPOS, 1992; CARNEIRO & GOMES, 1993; RIBEIRO & CAMPOS, 1993; D'ANGIERI FILHO & CAMPOS, 1997).

2.3.2. *Pochonia chlamydosporia*

Pochonia chlamydosporia também tem sido apontado como um agente de biocontrole de nematóides com expressivo potencial. O fungo é capaz de sobreviver na ausência do hospedeiro, visto que produz clamidósporos, o que o torna mais resistente a condições adversas do ambiente que outros, além de ser facilmente cultivado *in vitro*. É um parasito de ovos dos nematóides de cisto e dos formadores de galha (FREIRE & BRIDGE, 1985). Foi apontado como uma das principais causas do declínio de populações do nematóide de cistos dos cereais em monocultura na Inglaterra (KERRY

et al., 1982). Pode reduzir as populações de nematóides em mais de 90% quando aplicado a campo (DELEIJ et al., 1993). MORGAN-JONES et al. (1983) mencionaram que esse fungo preveniu a eclosão de juvenis de *M. arenaria* (Neal) Chitwood colonizando os ovos do nematóide. Tanto a parede do ovo quanto a cutícula do juvenil aparentam ser fisicamente impenetráveis. Contudo, ocorre a penetração de hifas do fungo as quais se desenvolvem endogenamente tanto em ovos quanto em juvenis.

DELEIJ et al. (1993) constataram efeito sinérgico da aplicação de aldicarb com *Verticillium chlamydosporium* para o manejo da população de *M. incognita*, obtendo 100 % de controle. Este estudo sinaliza com a possibilidade da utilização combinada de nematicidas com fungos nematófagos de modo a permitir a redução da quantidade de pesticida químico aplicada ao solo, sem comprometer ou até aumentando a eficácia do tratamento.

2.4. Fungos que Produzem Metabólitos Tóxicos

Vem surgindo, como alternativa, a utilização de fungos que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides (COSTA, 2000). Por exemplo, *Pleurotus ostreatus* (Jac. Ex Fr.) Kummer produz minúsculas gotas de toxinas que imobilizam o nematóide em menos de 30 segundos (BARRON & THORN, 1987). Com *P. lilacinus*, observou-se que seus metabólitos são capazes de paralisar o desenvolvimento embrionário de *M. hapla*, causando a morte de 88% dos embriões (FITTERS et al., 1993). Essas substâncias podem afetar a motilidade (COSTA, 2000), a capacidade de penetração na planta, a atração do juvenil pelo hospedeiro, a eclosão ou causar a morte desses fitoparasitas (KERRY et al., 1984), podendo apresentar efeito nematostático ou nematicida (HALLMAN & SIKORA, 1996; SAIFULLAH, 1996).

Nas interações entre fungos e nematóides, acredita-se que os metabólicos fúngicos podem exercer um papel importante tanto no ataque quanto na defesa contra os nematóides (STADLER et al., 1993). Por exemplo, no caso dos fungos nematófagos, em observações feitas por BARRON & THORN (1987), foi demonstrado que os fungos produzem toxinas que podem estar envolvidas na imobilização e morte dos nematóides.

Também, já se tem conhecimento de fungos que, para não serem consumidos por nematóides, protegem as suas hifas com substâncias tóxicas (RIFFLE, 1967 e 1971; HUTCHISON et al., 1996). Existem, ainda, fungos que aparentemente não interagem diretamente com os nematóides, mas são capazes de produzir substâncias com propriedades nematicidas (CHEN et al., 2000). Por exemplo, *Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo, cujo filtrado da cultura em meio líquido apresentou atividade nematicida sobre *M. incognita* (NITAO et al., 1999). Também, efeitos tóxicos foram observados com filtrados de vários isolados de *F. oxysporum* aos nematóides (HALLMAN & SIKORA, 1996; COSTA, 2000).

Vários fungos tiveram os filtrados correspondentes submetidos a testes toxicológicos *in vitro* e *in vivo* com *M. incognita*, o que permitiu observar que aqueles obtidos de *Cunninghamella elegans* Lendner, *Fusarium* sp., *P. lilacinus* e *P. variotii* Bainer foram os mais ativos contra o referido nematóide (COSTA, 2000).

Os fungos que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides têm despertado o interesse da indústria de defensivos nos últimos anos, visto que os efeitos colaterais de várias moléculas sintéticas vêm sendo demonstrados, resultando em restrições e até descontinuidade na utilização de várias delas. Com efeito, os metabólitos de microrganismos vêm assumindo importante papel como produtos que substituem moléculas desenvolvidas em laboratório para uso agrônomo ou veterinário. Os mais importantes anti-helmínticos para mamíferos, desenvolvidos nas últimas décadas, são as abamectinas, consideradas produtos naturais à base de metabólitos de *Streptomyces avermitilis* (Burg) Kim & Goodfellow. As abamectinas são nematicidas efetivos de solo, em alguns casos, mas o uso deles não é economicamente viável, conforme a opinião de BLACKBURN et al. (1996).

As pesquisas com o metabólito “omphalotin A”, produzido pelo basidiomiceto *Omphalotus olearius* (DeCandolle: Fries) Singer, exibiu atividade seletiva contra *M. incognita*, comparado com outros nematóides (MAYER et al., 1996). Estudos *in vitro* demonstraram que metabólitos antagônicos aos nematóides de galha (*Meloidogyne* spp.) estavam presentes em extratos e frações químicas de *Fusarium equiseti* os quais

inibiram a eclosão e imobilizaram juvenis de segundo estágio que eclodiram (NITAO et al., 1999).

COSTA et al. (2000) estudaram filtrados de 18 isolados fúngicos *in vitro* e observaram que apenas os filtrados de *Fusarium moniliforme* Sheldon, *F. oxysporum* e *P. lilacinus* reduziram a eclosão e a motilidade e causaram a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, semelhante à observada com aldicarb.

Em outro estudo, foi confirmado que os filtrados de quatro isolados de fungos inibiram significativamente a motilidade de juvenis do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe), do nematóide de galha *M. incognita* ou ambos os nematóides, mostrando o potencial nematicida desses compostos (MEYER et al., 2004).

Uma ampla listagem de fungos que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides é encontrada nos trabalhos de ANKE et al. (1995) e ANKE & STERNER (1997).

Por razões comerciais e segredo de indústria, muitas das pesquisas nessa área não são publicadas. As evidências, no entanto, indicam que, atualmente, há intensas buscas por novos metabólitos de fungos e outros microrganismos que possuam ação nematicida e menor impacto ambiental que as moléculas sintéticas tradicionais.

2.5. Eficácia do Controle Biológico de Nematóides com Fungos Nematófagos

O potencial dos fungos nematófagos no controle de nematóides foi demonstrado, no Brasil, em trabalhos realizados por SANTOS et al. (1992) e SANTOS & FERRAZ (1994 a, b) com *Monacrosporium ellipsosporum* (Grove) Cooke & Dickinson. Trata-se de um fungo predador que forma nódulos adesivos o qual vem apresentando expressivos resultados. SANTOS et al. (1992) relataram reduções de até 95% no número galhas, massas de ovos e juvenis de segundo estágio de *M. incognita* em raízes de tomateiro por esse fungo. MANKAU & WU (1985) também observaram

reduções de populações de *M. incognita* a campo por *M. elliposporum* na cultura do tomateiro.

Em testes de patogenicidade *in vitro* a *H. glycines*, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, *M. arenaia*, *M. javanica* e *M. incognita* raça 3, dezoito isolados de fungos nematófagos foram avaliados por SANTOS (1996). Constatou-se que *M. elliposporum*, *Arthrobotrys robusta* Duddington e três isolados de fungos não identificados, da subdivisão Mastigomycotina, foram os mais eficientes na predação dos nematóides testados, com exceção de *H. glycines*.

CAMPOS & CAMPOS (1997), ao estudarem, em casa de vegetação, o efeito da época e forma de aplicação dos fungos *Arthrobotrys conoides* Drechsler, *A. musiformis* Drechsler, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* no controle de *Meloidogyne exigua* Goeldi, em cafeeiro, verificaram que todos reduziram significativamente o número de juvenis de segundo estágio, número de ovos/g de raiz e a população total do nematóide, quando comparados à testemunha sem aplicação dos fungos.

MACHADO & CAMPOS (1997), avaliando a colonização de *A. conoides*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*, em diferentes substratos, visando ao controle de *M. javanica*, verificaram melhor eficiência dos fungos antagonistas quando multiplicados em esterco bovino e farelo de arroz.

Projetos recentes desenvolvidos no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV (MAIA, 2000; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002) também confirmaram o potencial de controle dos nematóides por alguns fungos nematófagos em estudos no laboratório e a campo (FAPESP, 2002).

MAIA (2000) obteve um isolado de *Monacrosporium robustum* cuja patogenicidade a juvenis de segundo estágio de *H. glycines* foi de 100% até o terceiro dia após a adição dos juvenis à cultura do fungo. Para os nematóides de galha *M. javanica* e *M. incognita*, esse fungo exibiu 100% de predação dos juvenis, já no primeiro dia. BERNARDO (2002) constatou que o mesmo fungo predou 100% de espécimes de *R. reniformis* no período de até três dias após a adição dos nematóides à cultura do fungo, e CORBANI (2002) obteve o mesmo resultado para juvenis e adultos do nematóide dos citros (*T. semipenetrans*), já no primeiro dia.

Um coquetel de cinco fungos nematófagos, a saber: *A. oligospora*, *A. musiformis*, *D. leptospora*, *M. robustum* e *P. lilacinus*, produzidos em um preparado especial de arroz, no Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV, foi incorporado ao substrato para o preparo das mudas de crisântemo de corte (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev), à razão de 1 L do coquetel dos fungos para 100 L do substrato. Ao final do período de produção das mudas em bandejas, de cerca de 20 dias, o substrato estava completamente colonizado pelos fungos. Quando essas mudas foram transplantadas para estufas com canteiros infestados por *M. javanica*, em área de produção comercial (cerca de 8 ha), em Holambra – SP, obteve-se o controle do nematóide, resultando em canteiros cujas plantas exibiam crescimento e florescimento uniformes. Além disso, o coquetel proporcionou plantas com hastes de melhor qualidade, maior tamanho e diâmetro. No caso de crisântemo de corte em estufas, esses fungos exibiram os melhores resultados no manejo de *M. javanica*, até o presente, mesmo comparado à fumigação do solo com brometo de metila (FAPESP, 2002; SOARES e SANTOS, 2005).

A mistura de partes iguais do substrato colonizado, individualmente, pelos fungos nematófagos *A. musiformis* e *A. oligospora*, aplicada em solo infestado por *M. incognita* e *R. reniformis* em ambiente protegido de cultivo comercial de alface (*Lactuca sativa* L.) do tipo americana, cv. Lucy Brown, nas doses de 4 e 8 L da mistura por parcela de 5 m de comprimento por 1 m de largura, proporcionou um ganho de mais de 400% na massa de matéria fresca da parte aérea das plantas produzidas em parcelas tratadas, em relação às plantas das não-tratadas, aos 54 dias após o transplântio (SOARES et al., 2005a). Não houve diferença entre a produtividade das parcelas tratadas com as doses de 4 e 8 L da mistura.

A mesma mistura de fungos foi aplicada em canteiro de produção comercial de pimentão (*Capsicum annuum* L.) cv. Elisa, em estufa com alta infestação por *M. incógnita*, na dose de 1 L da mistura/m², antes do transplântio das mudas. Os fungos apresentaram eficácia no controle do nematóide, resultando em melhor desenvolvimento das plantas nas parcelas tratadas. A produtividade média das parcelas tratadas foi de 0,6 caixa de 10 kg/m², enquanto nas parcelas não-tratadas foi de,

apenas, 0,35 caixa, representando um ganho de quase 100% nas parcelas tratadas com os fungos (SOARES et al., 2005b).

2.6. Formulação de Fungos Nematófagos

No processo de formulação dos fungos nematófagos, em geral, há uma expressiva demanda por culturas puras dos fungos para serem utilizadas na inoculação do substrato que dará origem à formulação. Meios de cultura que proporcionem rápido crescimento e/ou esporulação dos fungos são relevantes para o processo de formulação. Esses meios de cultura devem apresentar características que viabilizem sua utilização, tais como: seja de simples composição e fácil preparação; favoreçam a produção de grandes quantidades de micélio e esporos dos fungos nematófagos e apresentem custo igual ou menor que os meios industrializados, para possibilitar a produção de biomassa dos fungos suficiente para a inoculação de grande volume do substrato destinado ao preparo das formulações e viabilizar o emprego econômico desses organismos em grande escala.

O crescimento micelial e a esporulação abundantes são fundamentais para a disseminação e sobrevivência dos fungos em condições naturais (JANSSON, 1982a), o que é altamente desejável em programas de controle biológico. Atualmente, poucas são as opções de meios de cultura sólidos, utilizados para multiplicação desses fungos em placas de Petri. Em geral, os mais utilizados são: B.D.A.(batata dextrose ágar), B.D.A. + peptona, C.M.A. ("corn meal agar"), fubá + ágar e YPSS (DIAS & FERRAZ, 1993); B.D.A. e YPSS (MACHADO & CAMPOS, 1997); B.S.A. (batata sacarose ágar) (CASTRO et al., 2000). Vários desses meios utilizados são industrializados. Quando não, os produtos utilizados em sua composição podem ser sintéticos. A utilização de meios sintéticos ou industrializados pode não favorecer as pesquisas sobre a potencialidade dos fungos nematófagos, devido a dificuldades técnicas encontradas no cultivo de alguns desses organismos nesses meios (VAN GUNDY, 1985).

Na literatura, são encontrados trabalhos confirmando que a temperatura de 25 °C, em geral, é a mais favorável ao crescimento de diversos fungos nematófagos

(TEDFORD et al., 1995; VELVIS & KAMP, 1996; CASTRO et al., 2000). COOKE (1963) obteve maior crescimento micelial para um isolado de *A. musiformis* a 25 °C. DIAS & FERRAZ (1993) verificaram que, para cinco isolados de cinco espécies de *Arthrobotrys*, o meio YPSSA e a temperatura de 25 °C proporcionaram maior crescimento micelial e esporulação em relação aos demais e que, apesar de os isolados serem de espécies diferentes e algumas vezes até provenientes de regiões diferentes, eles tiveram comportamento semelhante quanto à temperatura. CASTRO et al. (2000) também constataram que a temperatura ótima que permitiu a obtenção da maior massa micelial de um isolado de *Arthrobotrys musiformis* foi de 25 °C.

Para as formulações, geralmente se utiliza um substrato constituído por sementes de cereais ou subprodutos diversos (SANTOS, 1991; DALLA PRIA, 1992; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002). Entre vários substratos testados para os fungos *A. conoides*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*, o melhor deles foi o farelo de arroz (MACHADO & CAMPOS, 1997).

CARNEIRO & GOMES (1997) prepararam uma formulação peletizada de *P. lilacinus*, utilizando uma mistura de alginato de sódio, argila e sulfato de estreptomicina e concluíram que a viabilidade do fungo nessa formulação permanecia inalterada por cinco meses à temperatura ambiente, e até 12 meses a 7 °C, decrescendo, rapidamente, após esses períodos.

Vários outros substratos têm sido testados para diferentes fungos (CARNEIRO & KULCZYNSKI, 1993; DIAS & FERRAZ, 1993; MACHADO & CAMPOS, 1997; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002).

Existem algumas formulações comerciais de fungos predadores no mercado exterior. Entretanto, essas formulações têm obtido desempenho variável por problemas de controle de qualidade, sendo, portanto, pouco usadas.

Na França, já foram comercializadas as formulações Royal 300[®] e Royal 350[®] (CAYROL et al., 1978; CAYROL & FRANKOWSKI, 1979). O Royal 300[®] tinha como base o fungo *Arthrobotrys robusta*, para controle de *Ditylenchus myceliophagous* Goodey em cogumelo. O Royal 350[®] era à base de *A. superba* Corda, destinada ao controle de *Meloidogyne* spp., em tomateiro. Esses nematicidas biológicos deixaram de

ser produzidos, sendo substituídos por outro produto denominado Nematus[®]. Além desses, outro produto à base de mistura de fungos predadores, produzido com a marca comercial Nemout[®], na formulação de pó molhável, foi produzido por uma indústria americana e reduziu o número de galhas e de ovos de *M. javanica* em raízes de tomateiro, sob condições de casa de vegetação (Al-HAZMI et al., 1993).

Duas linhagens do fungo predador *Arthrobotrys* sp. estão disponíveis, como o agente nematicida “Nematofagin-BL[®]” na Rússia (MATSKIEVICH, 1993). Ambas as linhagens são efetivas na redução de populações de nematóide em diversas culturas. STIRLING & MANI (1995) também produziram formulações granulares de *Dactylella candida* (Nees) De Hoog & Van Oorschot e *A. dactyloides* em alginato puro, encapsulando diferentes quantidades da biomassa do fungo. As melhores formulações foram aquelas nas quais o fungo foi encapsulado em grânulos de alginato. Essas formulações produziram uma rede de armadilhas no solo, as quais se mantiveram por aproximadamente 10 dias no solo correspondente ao volume do bulbo com 5-10 mm de diâmetro, radialmente distribuído em volta do grânulo.

Em 1998, a empresa Abbott Laboratories introduziu no mercado um nematicida biológico derivado da fermentação de um isolado de *Myrothecium verrucaria* (Alb. & Schwein.) Ditmar, em meio líquido. O produto recebeu o nome comercial DiTera[®] e foi introduzido no mercado norte-americano e em outros países, tendo apresentado resultados efetivos no controle dos nematóides. Em experimento a campo, esse produto controlou várias espécies de nematóides de importância econômica, incluindo nematóides de galha (*Meloidogyne* spp.), nematóides de cisto (*Heterodera* e *Globodera* spp.), nematóides das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.), *Trichodorus* spp., *Belonolaimus* spp., o nematóide cavernícola (*Radopholus similis* Cobb) Thorne e vários outros associados a diferentes culturas (WARRIOR et al., 1999).

Nas Filipinas, a partir de 1981, a maior parte dos estudos sobre o controle biológico de nematóides enfocou o uso de *P. lilacinus*, conforme compilação feita por KERRY (1990). Alguns desses relatos dão conta de que *Meloidogyne* sp., em tomateiro, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens, em batata, *R. similis*, em bananeira, *T. semipenetrans*, em citros, *R. reniformis*, em abacaxi, e *Pratylenchus* spp., em diferentes

culturas, foram controlados com eficiência por uma formulação comercial desse fungo, produzida nas Filipinas, conhecida como Bioact[®] (KERRY,1989). Um isolado desse fungo que apresentou maior eficácia na colonização de ovos de nematóides (Phil. Strain No. 1), entre muitos outros testados, passou a ser produzido em massa e comercializado com a marca BIOCON[®] pela empresa Asiatic Technologies Inc. de Manila (DAVIDE et al., 1990). Outro nematicida biológico denominado Paecil[®], tendo como princípio ativo um isolado patenteado de *P. lilacinus* usado pela firma Australiana Technological Innovation Corporation Pty Ltda (KERRY, 1989), também tem sido empregado em escala comercial.

Recentemente, um produto comercial à base de *P. chlamydosporia*, parasita de ovos e cistos de nematóides, foi lançado e registrado com o nome comercial KlamiC[®] para o uso no controle de nematóides de galha em diferentes culturas, em Cuba. A aplicação desse produto resultou em reduções da infestação dos nematóides superiores a 80% (KERRY, 2006).

III. MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos em condições controladas foram conduzidos no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal – SP, e os estudos da eficácia da mistura dos fungos nematófagos no manejo dos nematóides foram conduzidos em diferentes culturas e ambientes a campo, em propriedades privadas.

3.1. Detecção, Isolamento e Manutenção das Culturas Puras dos Fungos Nematófitos

Amostras de solo de diferentes culturas e regiões do Estado de São Paulo e de outras regiões do Brasil foram utilizadas para a detecção e isolamento de fungos nematófitos da microflora do solo e inclusão na coleção de fungos nematófitos do Laboratório de Nematologia. Foram coletadas 42 amostras de solo e raízes de 12 diferentes culturas, a saber: tomateiro (*Solanum lycopersicom* L.), mamoeiro (*Carica papaya* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.), quiabeiro (*Hibiscus esculentus* L.), uva (*Vitis vinifera* L.), citros (*Citrus* spp.), cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), pimenta (*Capsicum* sp.), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), cebola (*Allium cepa* L.), cebolinha verde (*Allium fistulosum* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e Goiás.

Foi utilizado o método do espalhamento de solo descrito por BARRON (1977), modificado por SANTOS (1991), para a detecção dos fungos nematófitos ectoparasitos (predadores) que, usualmente, são de crescimento rápido. No centro de placas de Petri, contendo ágar-água 2%, foi colocada uma colher de sopa rasa da amostra de solo previamente homogeneizada. A seguir, foi adicionado 1 mL de

suspensão concentrada do nematóide de vida-livre (NVL) *Panagrellus* sp., tendo como objetivo estimular o crescimento e a esporulação dos fungos nematófagos.

A população de *Panagrellus* sp. foi multiplicada em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo um substrato à base de farinha de aveia umedecida. As placas permaneceram à temperatura ambiente até se obter a multiplicação da população. Periodicamente, de 15 a 30 dias, essa população vem sendo repicada para novas placas com o mesmo substrato. Após a multiplicação, os nematóides eram recolhidos da superfície do meio e das tampas das placas em suspensão aquosa, em um béquer de 100 mL, com auxílio de uma pisseta. Para limpar a suspensão e recuperar somente os nematóides vivos, a suspensão foi aplicada ao funil de Baermann (BAERMANN, 1917).

Após a aplicação do NVL, as placas foram mantidas no escuro em condições ambiente do Laboratório, onde as médias das temperaturas mínimas e máximas no período foram de 24-26 °C, respectivamente. Aproximadamente 5 dias após o plaqueamento das amostras de solo (Figura 1), iniciou-se a observação das placas em um microscópio estereoscópio.

Constatada a presença de nematóides predados, exibindo frutificações fúngicas, sob condições assépticas (em câmara de fluxo laminar) e com auxílio de um estilete de ponta fina flambado, foram transferidos conídios individuais ou nematóides predados pelos fungos para outras placas de Petri contendo ágar-água a 2%. Em seguida, foi adicionado 1 mL da suspensão concentrada de NVL para estimular o crescimento e a esporulação dos fungos. Após cinco dias (em média), conídios dos fungos foram transferidos para tubos de ensaio, contendo meio de cultura BDA inclinado, em câmara de fluxo laminar. Esses tubos foram acondicionados em incubadoras a 25 °C, por no máximo, 15 dias, no escuro, até que o fungo colonizasse toda a superfície do meio e, a seguir, o fungo foi coberto com óleo mineral NUJOL autoclavado.

Os tubos de ensaio, com culturas puras dos fungos, estão sendo mantidos no escuro à temperatura ambiente. A cada ano, estão sendo repicados de tubo para tubo, duas a três vezes consecutivas, em intervalos de um ano. Após a última repicagem, os fungos foram transferidos para placas de Petri, com ágar-água a 2%, acrescida de uma

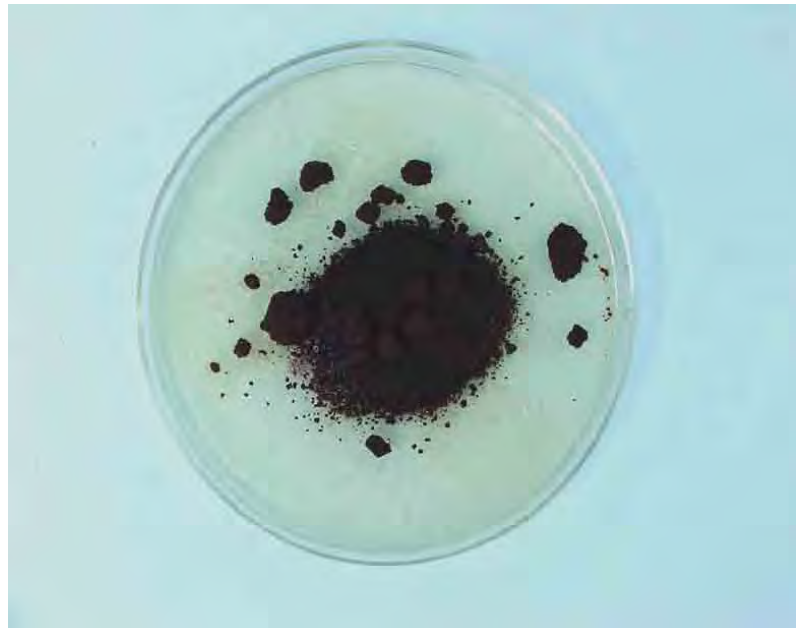
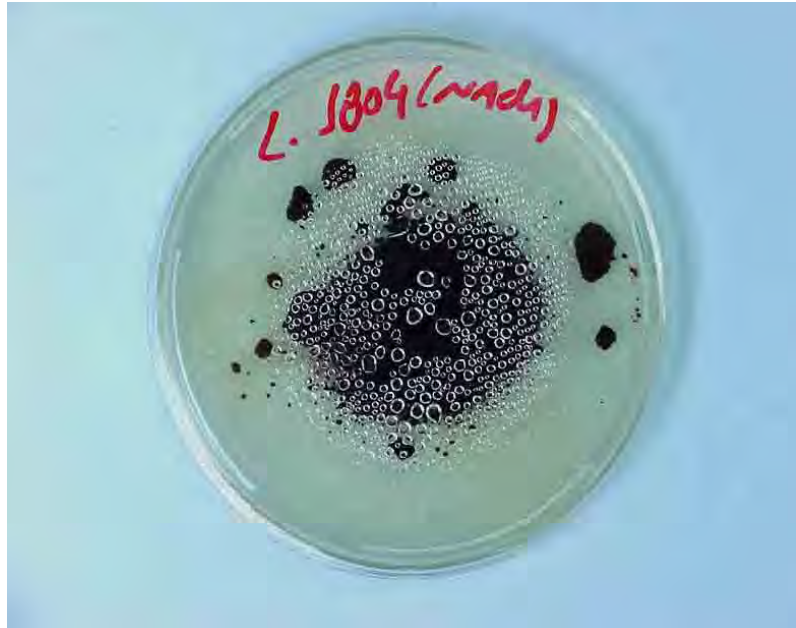


Figura 1. Placas de Petri contendo ágar-água a 2 %, com uma alíquota de uma amostra de solo, sobre a qual foi aplicada a suspensão de *Panagrellus* sp., utilizada como isca, para detecção, isolamento e identificação de fungos nematófagos predadores.

alíquota e 2 mL da suspensão concentrada de NVL. Após a predação e/ou infecção dos nematóides, os fungos foram novamente isolados, em cultura pura, a partir de estruturas reprodutivas, sendo armazenados conforme mencionado anteriormente. Essa operação deve ser realizada como medida preventiva à perda da patogenicidade dos fungos, após períodos mais prolongados em estado de crescimento vegetativo.

3.2. Manutenção de Culturas Puras dos Fungos da Coleção do Laboratório de Nematologia

A coleção de fungos nematófagos do Laboratório de Nematologia é composta por cinco diferentes espécies: *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Dactylella leptospora*, *Monacrosporium robustum* e *Paecilomyces lilacinus*. As culturas puras desses fungos são mantidas em tubos de ensaio, no escuro, à temperatura ambiente, conforme descrito no item 3.1. Conforme mencionado no item anterior, a cada ano, os fungos estão sendo repicados para placas de Petri, com ágar-água a 2%, e uma suspensão do NVL é acrescida à placa para prevenção à perda de patogenicidade. No caso do parasito de ovos (*P. lilacinus*), em vez da suspensão de NVL, acrescentam-se 1 a 2 mL de suspensão concentrada de ovos de *Meloidogyne* sp., obtidos conforme HUSSEY & BARKER (1973), a partir de plantas de tomateiro infectadas pelo nematóide, mantidas em casa de vegetação. Após a predação e/ou infecção dos nematóides ou ovos, os fungos são novamente isolados, em cultura pura, a partir de estruturas reprodutivas, e armazenados conforme mencionado no item anterior. Conquanto o isolado de *M. robustum* da mencionada coleção tenha exibido elevada patogenicidade a diferentes nematóides em estudos anteriores (MAIA, 2000; MAIA, 2001; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002), pelo fato de se tratar de um fungo de crescimento muito lento, decidiu-se não incluí-lo em alguns dos testes a campo.

3.3. Crescimento Micelial e Esporulação de um Isolado de *Arthrobotrys musiformis* e um de *Arthrobotrys oligospora* em Diferentes Meios de Cultura e duas Temperaturas

Foram utilizados um isolado de *A. musiformis* e um de *A. oligospora*, obtidos da coleção de fungos nematófagos do Laboratório de Nematologia, oriundos das regiões de Ipameri – GO, e Itiquira – MT, respectivamente.

Para a avaliação do efeito da temperatura sobre o crescimento micelial e esporulação desses dois fungos, os isolados foram submetidos a dois diferentes regimes de temperaturas, sendo estes: ambiente controlado (B.O.D. a 25 ± 1 °C no escuro) e condição de temperatura ambiente, no escuro, onde as médias das temperaturas mínimas e máximas no período foram 24,9 °C e 26,9 °C, respectivamente.

Para cada regime de temperatura, foram utilizados vinte diferentes meios de cultura, sendo estes, com as respectivas composições para cada litro de meio: 1) ágar-água a 2% (AA: 20 g de ágar e 20 g de dextrose); 2) água de arroz (AAZ: água de 60 g de arroz fervido, 20 g de ágar e 20 g de dextrose); 3) aveia em flocos finos (AFF: 60 g de aveia em flocos finos, 20 g de ágar e 20 g de dextrose); 4) aveia em flocos grossos (AFG: 60 g de aveia em flocos grossos, 20 g de ágar e 20 g de dextrose); 5) ágar micológico (AM: meio industrializado pronto da VETEC®); 6) amido de milho (AMA: 60 g de amido de milho, 20 g de ágar e 20 g de dextrose); 7) arroz em grãos (AZG: 60 g de grãos de arroz cozido, 20 g de ágar e 20 g de dextrose); 8) arroz triturado (AZT: 60 g de arroz cozido e triturado, 20 g de ágar e 20 g de dextrose); 9) batata-dextrose-ágar (BDA: 200 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g de ágar); 10) batata-dextrose-ágar mais levedura (BDA+L: 200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 50 g de levedura); 11) corn meal ágar (CMA: meio industrializado); 12) farinha de aveia (FA: 60 g de farinha de aveia, 20 g de dextrose e 20 g de ágar); 13) farinha de mandioca (FM: 60 g de farinha de mandioca, 20 g de dextrose e 20 g de ágar); 14) farinha de milho (FMI: 60 g de farinha de milho, 20 g de dextrose e 20 g de ágar); 15) farinha de rosca (FR: 60 g de farinha de rosca, 20 g de dextrose e 20 g de ágar); 16) farinha de trigo (FT: 60 g de farinha de trigo, 20 g de dextrose e 20 g de ágar); 17) fubá (FU: 60 g de fubá, 20 g de

dextrose e 20 g de ágar); 18) polvilho azedo (PA: 60 g de polvilho azedo, 20 g de dextrose e 20 g de ágar); 19) polvilho doce (PD: 60 g de polvilho doce, 20 g de dextrose e 20 g de ágar) e 20) trigo para quibe (TK: 60 g de trigo para quibe, 20 g de dextrose e 20 g de ágar).

Cada um dos meios foi pré-aquecido em banho-maria e autoclavado a 120 °C por 20 minutos. Foi utilizado o meio BDA para o desenvolvimento inicial dos fungos, durante 15 dias. Discos do micélio de 5 mm de diâmetro, retirados dos bordos das colônias, foram transferidos para o centro de placas de Petri descartáveis, contendo cada um dos meios mencionados anteriormente, com auxílio de uma alça de metal, em condições assépticas. Os fungos foram incubados nas duas condições de temperatura previamente mencionadas, no escuro.

Com uma caneta de transparência para retroprojektor, foram feitos traços a partir do centro até o bordo das placas. As medições do diâmetro do crescimento micelial sobre os traços previamente marcados foram feitas com auxílio de uma régua, diariamente, até que o crescimento do micélio de um dos isolados, em algum dos tratamentos, atingisse completamente as bordas da placa de Petri. Além desta avaliação, ao término das medições de crescimento micelial de todos os tratamentos, foi realizada a avaliação das estruturas reprodutivas formadas pelos fungos, através da contagem de conídios em câmara de Newbauer, com auxílio de um microscópio óptico composto. Uma suspensão de cada repetição, em cada tratamento, foi obtida através da adição de 10 mL de água destilada esterilizada na placa e a raspagem das colônias com auxílio de um pincel.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, seguindo o esquema fatorial 20 x 2 x 2, com cinco repetições para cada tratamento. Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1) conforme BARBOSA (2001) e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.4. Potencial do Controle Biológico de *Meloidogyne javanica* Infectando Tomateiro em Vasos por Quatro Fungos Nematófagos em Casa de Vegetação

Meloidogyne javanica (Treub) Chitwood é um dos nematóides-chave do tomateiro e de várias outras culturas no Brasil e tem causado perdas consideráveis à cultura. O controle biológico é uma prática de manejo que tem apresentado grande potencial e eficácia no controle de fitonematóides. Nesse estudo, avaliou-se o potencial de quatro fungos nematófagos para o manejo de *M. javanica* em tomateiro, em vasos, em casa de vegetação.

Para o estudo comparativo do antagonismo de fungos nematófagos ao nematóide em estudo, foram utilizados isolados puros de *Arthrobotrys oligospora*, *Dactylella leptospora*, *Monacrosporium robustum* e *Paecilomyces lilacinus* da coleção de fungos nematófagos existentes no Laboratório de Nematologia. O inóculo dos fungos foi produzido a partir de culturas puras desses isolados mantidos no Laboratório de Nematologia. Utilizaram-se 214 g de quirera de arroz, juntamente com 100 mL de água destilada, em sacos de polipropileno autoclaváveis, fechando-se os sacos com uma peça de fio de cobre. Então, foram autoclavados a 121 °C e 1 atm, por 20 minutos. Após o resfriamento, os sacos foram levados à câmara de fluxo laminar para inoculação. Adicionaram-se cerca de 10 mL de água esterilizada às placas de culturas puras dos fungos e, com auxílio da alça de Drigalski, raspou-se a superfície das culturas. Após a raspagem e retirada da suspensão de micélio e conídios, o volume foi ajustado para 120 mL de suspensão em água esterilizada. Em seguida, com auxílio de seringa descartável esterilizada de 20 mL, procedeu-se à inoculação de 3 mL da suspensão em cada saco. Após a inoculação, as culturas foram mantidas em sala a 25 ± 2 °C, no escuro, por 15 dias. A cada dois dias, o conteúdo dos sacos era misturado manualmente para uma colonização mais uniforme do substrato.

A partir de subpopulação pura de *M. javanica*, mantida em tomateiro cv. Santa Cruz Kada, em vasos, em casa de vegetação, obteve-se uma suspensão de ovos e juvenis de segundo estágio, utilizando-se da técnica de HUSSEY & BARKER (1973).

Mudas de tomateiro da mesma cultivar, produzidas em bandejas com substrato orgânico Plantimax[®], com 27 dias após a germinação, foram utilizadas no teste. Dois dias antes do transplante, 20 g do inóculo dos diferentes fungos utilizados foram misturados com o substrato constituído da mistura de terra de subsolo e areia não tratados, na proporção de 1:2, e colocados em vasos de argila de 6 L de capacidade, para favorecer a colonização pelos fungos. Posteriormente, as mudas de tomateiro foram transplantadas e inoculadas com 10 mL de suspensão contendo 500 ovos e juvenis de segundo estágio/mL de *M. javanica*/muda/vaso, dispostas em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso. As plantas foram diariamente irrigadas e, onze dias após o transplante, foram adubadas com 10 g/vaso de NPK (04-14-08). Aos 57 dias após a inoculação do nematóide, as plantas foram coletadas para avaliação das variáveis: massa de matéria fresca da parte aérea (MFPA), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria fresca das raízes (MFR), número de galhas nas raízes (N° GALHAS), número de massas de ovos nas raízes (N° M.O.), número de ovos extraídos das raízes (HUSSEY & BARKER, 1973) e número de juvenis/100 cm³ de solo, extraídos pela técnica de JENKINS (1964).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.5. Controle Biológico de *Meloidogyne javanica* em Alface em Vasos com Quatro Fungos Nematófagos

Para o estudo comparativo do controle biológico de *M. javanica* em alface com quatro fungos nematófagos, foram utilizados os tratamentos: alface inoculada com o nematóide (testemunha) e alface inoculada com o nematóide e aplicação dos isolados puros de *A. musiformis*, *A. oligospora*, *D. leptospora* e *M. robustum* da coleção de fungos nematófagos existente no Laboratório de Nematologia. A partir desses isolados, a produção de inóculo foi feita conforme descrito no item 3.3.

A partir de cultura pura de *M. javanica* mantida em tomateiros cv. Santa Cruz Kada, em vasos, em casa de vegetação, obteve-se uma suspensão de ovos e juvenis de segundo estágio, utilizando-se da técnica de HUSSEY & BARKER (1973). Dois dias antes do transplante e inoculação das mudas de alface para vasos de cerâmica de seis litros, contendo substrato constituído da mistura de areia e terra de subsolo não tratado, na proporção de 2:1, foram aplicados, em cada vaso, 20 g do inóculo dos quatro fungos (tratamentos), individualmente, tendo em vista favorecer a colonização do substrato pelos fungos. As mudas de alface cv. Vera, com 27 dias após a germinação em bandejas de poliestireno expandido, contendo substrato orgânico Plantimax®, foram transplantadas, uma muda/vaso e inoculadas com 10 mL de suspensão contendo 1.000 ovos e juvenis de segundo estágio de *M. javanica*/muda/vaso, dispostas no delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso. As plantas foram irrigadas diariamente e, onze dias após o transplante, foram adubadas com 10 g/vaso de NPK (04-14-08). Aos 50 dias após a inoculação do nematóide, as plantas foram coletadas para avaliação das variáveis: número de folhas (N° FOLHAS), massa de matéria fresca da parte aérea (MFPA), massa de matéria fresca das raízes (MFR), número de galhas nas raízes (N° GALHAS), número de massas de ovos nas raízes (N° M.O.), número de ovos extraídos das raízes (HUSSEY & BARKER, 1973) e número de juvenis/100 cm³ de solo, extraídos pela técnica de JENKINS (1964).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1) conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.6. Utilização de Fungos Nematófagos no Controle de *Rotylenchulus reniformis* em Alface em Casa de Vegetação

Para o estudo comparativo do antagonismo de fungos nematófagos a *R. reniformis* Linford & Oliveira, foram utilizados os tratamentos: alface não inoculada com nematóide (Testemunha 1), alface inoculada com nematóide mais adição de quirera de

arroz autoclavada (Testemunha 2), alface inoculada com nematóide em substrato tratado com quirera de arroz colonizada por *A. musiformis*, com *A. oligospora*, com *D. leptospora* e com *M. robustum*, individualmente, obtidos da coleção de fungos nematófagos do Laboratório de Nematologia da FCAV. A partir desses isolados, a produção de inóculo foi feita conforme mencionado no item 3.3.

A partir de cultura pura de *R. reniformis* mantida em plantas de mamona (*Ricinus communis* L.), em vasos de argila, em casa de vegetação, suspensões de ovos e juvenis de segundo estágio do nematóide foram obtidas pelo método do hipoclorito de sódio a 0,25 % (WALTERS & BARKER, 1993). As mudas de alface cultivar Vera foram obtidas em substrato orgânico Plantimax[®], conforme descrito no item anterior. Dois dias antes do transplante, 20 g do inóculo dos diferentes fungos utilizados foram misturados com o substrato constituído da mistura de areia e terra de subsolo não tratado, na proporção de 2:1, e colocados em vasos de argila de 6 L de capacidade, de maneira a favorecer a colonização dos fungos. Posteriormente, as mudas de alface foram transplantadas e inoculadas com 10 mL de suspensão contendo 1.000 ovos e juvenis de segundo estágio de *R. reniformis*/muda/vaso, dispostas em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. As plantas foram diariamente irrigadas e, onze dias após o transplante, foram adubadas com 10 g/vaso de NPK (04-14-08). Aos 50 dias após a inoculação do nematóide, as plantas foram coletadas para a avaliação das variáveis: número de folhas (N° FOLHAS), massa de matéria fresca da parte aérea (MFPA), massa de matéria fresca das raízes (MFR), número de ovos nas raízes (N° OVOS), extraídos conforme HUSSEY & BARKER (1973), e número de juvenis/100 cm³ de solo (N° JUVENIS), extraídos pela técnica de JENKINS (1964). Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.7. Avaliação Preliminar da Eficácia do Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* em Pimentão com Fungos Nematófagos em Ambiente Protegido (I)

Na cidade de Reginópolis – SP, foi criada uma associação de aproximadamente 60 produtores de pimentão e outras culturas em estufa, denominada PARE (Produtores Associados de Reginópolis e Região). Um dos principais problemas do grupo é o prejuízo causado à cultura por *M. incognita* (Figura 2). De acordo com informes obtidos na mencionada Associação, estufas não infestadas pelo nematóide chegam a produzir de 1.500 a 1.800 caixas de 10 kg de pimentão. Entretanto, quando infestadas, produzem, apenas, 800 a 900 caixas, dependendo do nível de infestação da praga. O prejuízo, em média, tem sido de, aproximadamente, 50%, se comparado à produção da cultura em estufas não infestadas. Diante desses fatos, a Associação solicitou ajuda na solução do problema tendo sido iniciados os estudos visando-se a avaliar a eficácia dos fungos nematófagos no controle do nematóide nas estufas do grupo, no período de 12-03-2004 a 29-09-2004.

A partir de cultura pura dos fungos *A. musiformis* e *A. oligospora*, mantidas em tubos de ensaio, transferiu-se, com auxílio de um estilete flambado, uma pequena porção do meio, para placas de Petri contendo ágar-água a 2%. Essas placas foram mantidas em estufa do tipo BOD a 25 ± 1 °C, por ± 15 dias, no escuro. Após esse período, quando os fungos apresentaram esporulação abundante, estruturas reprodutivas dos fungos (conídios) foram transferidas para placas de Petri contendo BDA, e as placas foram mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente, por 12 dias. A seguir, foram adicionados 24 mL de água destilada esterilizada em cada placa e, com auxílio de uma alça de Driglauski, foi removido o micélio da superfície do meio.

Em câmara de fluxo laminar, foram inoculados, com auxílio de uma pipeta de Pasteur descartável, 6 mL da suspensão obtida em 600 g de arroz, acrescidos de 100 mL de água destilada, autoclavados a 121 °C a 1 atm, durante 40 minutos, em sacos de polipropileno autoclaváveis, através de um orifício aberto na parede de cada saco. A

A



B



Figura 2. Sintomas típicos produzidos por *Meloidogyne incognita* em raízes coletadas na região de Reginópolis – SP. A) Raízes de pimentão. B) Raízes de pepino.

seguir, o orifício para a inoculação do arroz em cada saco foi vedado com fita adesiva, e a cultura foi incubada em sala escura com temperatura ambiente de cerca de 25 ± 2 °C, por 30 dias, até a colonização total do arroz. Periodicamente, esses sacos foram revolvidos para homogeneização da colonização do substrato pelo fungo (Figura 3). Ao final, esse material foi utilizado como inóculo nas estufas.

O experimento, visando à avaliação do controle biológico de *Meloidogyne incognita*, utilizando fungos nematófagos, foi instalado em uma estufa com pimentão, em Pirajuí-SP, cujas análises prévias de amostras de solo (JENKINS, 1964) e raízes (COOLEN & D'HERDE, 1972), coletadas em 01-12-03, revelaram, em média, a presença de 3.904 juvenis de *M. incognita* em 100 cm^3 das amostras de solo e 16.240 juvenis de segundo estágio e ovos por 10 g de raízes. A espécie foi identificada com base nos caracteres morfológicos do padrão perineal, preparado conforme TAYLOR & NETSCHER (1974), na morfologia da região labial dos machos (EISENBACK et al., 1981) e no fenótipo isoenzimático para esterase, obtido pela técnica de ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU (1990), utilizando-se de um sistema tradicional de eletroforese vertical Mini Protean II da BIO-RAD.

A área experimental utilizada foi um canteiro de 30 m de comprimento e 0,60 m de largura. Esse canteiro foi dividido em 5 parcelas, sendo 6 m de comprimento para cada parcela. O tratamento adotado foi em delineamento inteiramente casualizado a partir da mistura de *A. musiformis* e *A. oligospora*, com três repetições, e a testemunha com duas repetições. O número desigual de repetições foi decorrência da limitação da área no interior da estufa, tendo sido disponibilizada apenas essa área para o experimento. O experimento foi conduzido de acordo com o seguinte croqui:

Tratamento 1 - Aplicação de 4 sacos de arroz contendo 600 g de arroz colonizado cada, sendo 2 de cada fungo, por parcela;

Tratamento 2 - Testemunha (sem aplicação do arroz colonizado na parcela);



B



Figura 3. Inóculo de fungo nematófago.
A) Saco de polipropileno utilizado para multiplicação do fungo nematófago. B) Preparado especial de arroz colonizado pelo fungo.

CANTEIRO (30 m comprimento X 0,6 m largura)

Tratamento	Tratamento	Tratamento	Tratamento	Tratamento
1	2	1	2	1

Imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, após a marcação das parcelas, foram coletadas quatro amostras simples para a formação de uma amostra composta de solo para cada parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides em 100 cm³ das amostras de solo.

O tratamento foi aplicado distribuindo-se, manualmente, de forma homogênea, todo o substrato colonizado, ao longo da parcela, em um sulco aberto no centro do canteiro (Figura 4), promovendo-se leve incorporação com um enxadão. Após 15 dias da aplicação dos fungos, mudas de pimentão da cultivar Elisa, com 35 dias de idade, foram transplantadas no canteiro. Foi avaliada a produtividade média das parcelas de subsolo tratadas e não-tratadas e a população do nematóide no solo e nas raízes aos 60; 120 e 180 dias, após o transplântio.

Para cada avaliação, foi retirada uma amostra composta a partir de 4 amostras simples de solo e raízes coletadas entre as plantas ao longo da parcela. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, a população de nematóides nas amostras foi estimada ao microscópio óptico composto com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

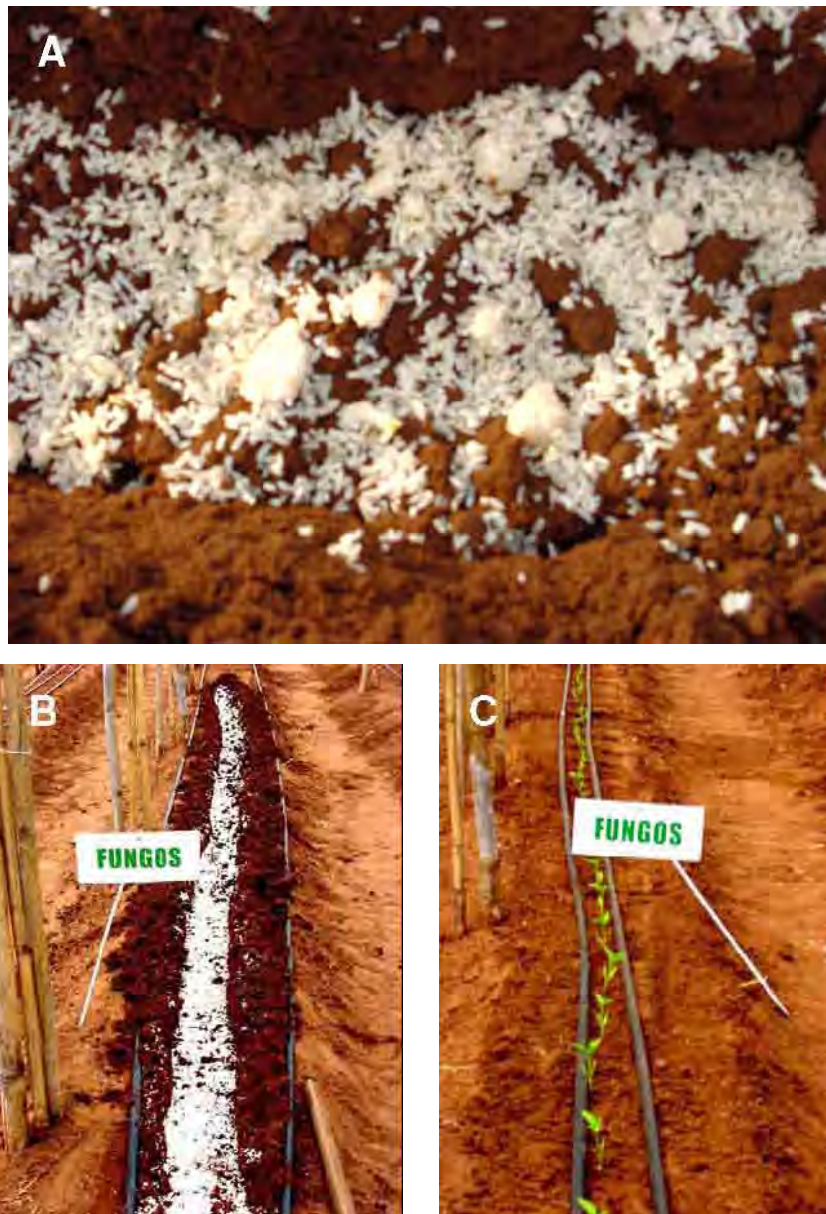


Figura 4. Aplicação da mistura do arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* no canteiro de estufa infestada por *Meloidogyne incognita*. A) Material aplicado 15 dias antes do transplante. B) Aspecto da parcela tratada. C) Mudanças de pimentão cultivar ELISA transplantadas na parcela tratada.

3.8. Eficácia do Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* Utilizando *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* em Cultivo de Pimentão sob Estufa (II)

Com o sucesso obtido no teste preliminar, anteriormente descrito, decidiu-se utilizar diferentes doses da mistura de *A. musiformis* e *A. oligospora* para o controle biológico de *M. incognita* em estufa de pimentão.

O inóculo foi preparado como descrito no item 3.7., e o experimento foi instalado em uma estufa cultivada com pimentão, em Reginópolis-SP, no período de 21-06-2004 a 05-04-2005.

A área experimental utilizada foi de uma estufa com 18 canteiros de 30 m de comprimento e 0,60 m de largura. Cada canteiro foi dividido em 4 parcelas de, aproximadamente, 7 m de comprimento. Os tratamentos adotados foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, e preparados a partir da mistura de *A. musiformis* e *A. oligospora*, conforme descrição detalhada a seguir:

1. 1 litro da mistura em partes iguais de arroz colonizado por ambos os fungos por parcela;
2. 2 litros da mesma mistura por parcela;
3. 3 litros da mesma mistura por parcela;
4. 4 litros da mesma mistura por parcela;
5. Suspensão de conídios de *A. oligospora* (68.130 conídios/mL, sendo 120 mL da suspensão por parcela, equivalente a 8.175.600 conídios por parcela);
6. Testemunha = sem o tratamento com os fungos.

Os tratamentos relativos à mistura de arroz colonizado pelos fungos foram aplicados manualmente, de forma homogênea ao longo da parcela, em um sulco aberto no meio do canteiro (Figura 5 A e B), promovendo-se leve incorporação com um enxadão. Para o tratamento com a suspensão de esporos de *A. oligospora*, utilizou-se

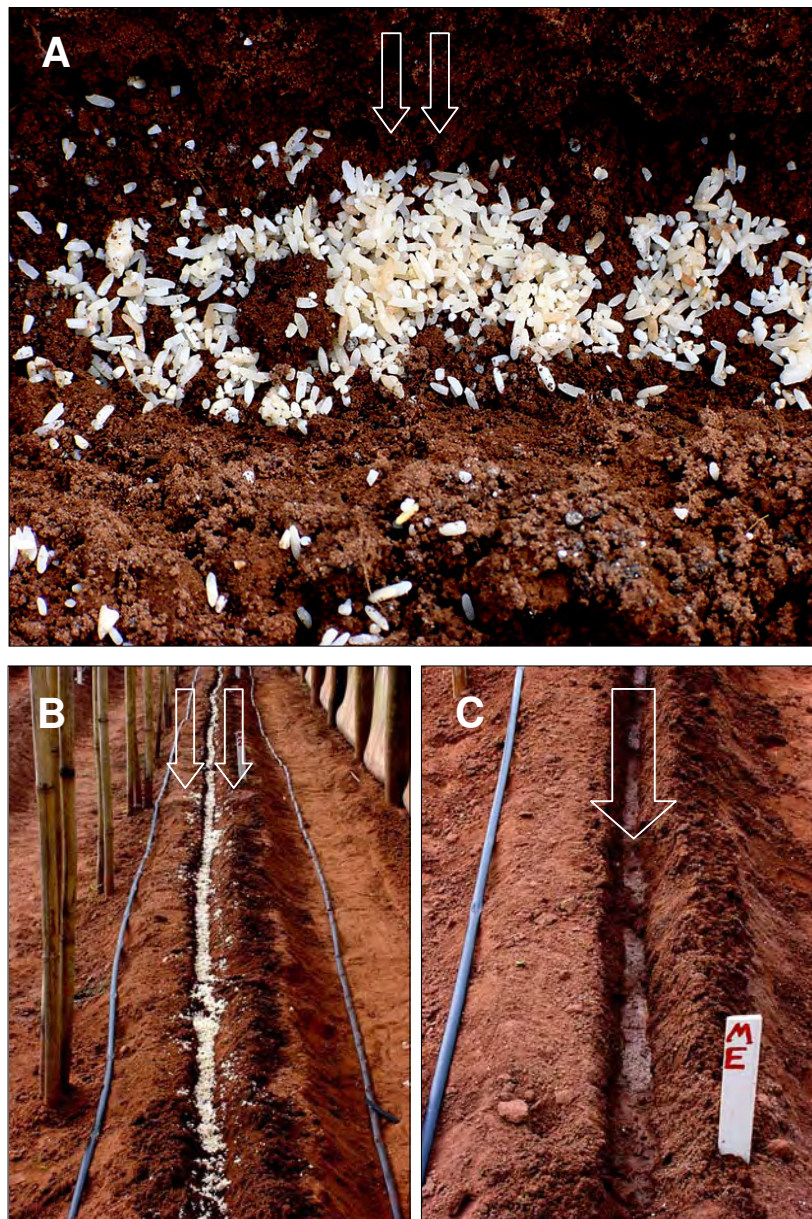


Figura 5. Aplicação de fungos nematófagos em parcelas de pimentão, em estufa, infestada por *Meloidogyne incognita*. A e B) Grãos de arroz colonizados pelos fungos *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* (setas) aplicados em um sulco no centro do canteiro. C) Aplicação de 120 mL de suspensão de conídios contendo 68.130 conídios/mL de *A. oligospora*, diluídos em 5 L de água, por parcela de 7 m de comprimento, em um sulco no centro do canteiro (seta), 17 dias antes do transplante das mudas de pimentão.

um regador, onde foram colocados 120 mL da suspensão original e completou-se o regador para 5 litros com água. Em seguida, essa suspensão de conídios foi distribuída no sulco de forma homogênea (Figura 5 C).

A suspensão de conídios de *A. oligospora* foi obtida em câmara de fluxo laminar em condições assépticas, utilizando-se de 20 placas de Petri do fungo crescido em BDA. A placa foi preenchida com água esterilizada e com o auxílio de uma alça de Driglauski, raspou-se a superfície do meio para a retirada do maior número de conídios do fungo. A seguir, acrescentaram-se 15 gotas/L de Tween 20 e estimou-se o número de conídios na suspensão, utilizando-se da câmara de Newbauer.

Após a marcação das parcelas, imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, foram coletadas quatro amostras simples para a formação de uma amostra composta de solo por parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides em 100 cm³ das amostras de solo. As mudas de pimentão das cultivares Amanda, Margarita e Zarco, com 35 dias da germinação, foram transplantadas nos canteiros, 17 dias após a aplicação dos tratamentos, conforme o croqui apresentado à página seguinte.

Após o transplante das mudas, foram realizadas amostragens do solo e de raízes aos 60; 120 e no final do ciclo da cultura, aos 180 dias, para a verificação do nível da população do nematóide. Para essas avaliações, uma amostra composta foi formada a partir de quatro amostras simples de solo e raízes coletadas entre as plantas de cada parcela. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da FCAV, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, a população de nematóides nas amostras foi estimada ao microscópio óptico composto com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Croqui da área experimental em estufa com pimentão, Reginópolis – SP.

Canteiro 1	B1 = AMANDA 3 L	B2 = MARGARITA 2 L	B3 = AMANDA 1 L	B4 = ZARCO TESTEMUNHA
Canteiro 2	B1 = MARGARITA 1 L	B2 = AMANDA TESTEMUNHA	B3 = ZARCO 2 L	B4 = AMANDA 4 L
Canteiro 3	B1 = AMANDA 2 L	B2 = ZARCO 1L	B3 = MARGARITA ESPOROS	B4 = ZARCO 4 L
Canteiro 4	B1 = AMANDA ESPOROS	B2 = MARGARITA TESTEMU	B3 = ZARCO 3 L	B4 = MARGARITA 1 L
Canteiro 5	B1 = ZARCO 2 L	B2 = AMANDA 1 L	B3 = MARGARITA 4 L	B4 = ZARCO ESPOROS
Canteiro 6	B1 = MARGARITA ESPOROS	B2 = ZARCO 4 L	B3 = AMANDA 2 L	B4 = MARGARITA TESTEMU
Canteiro 7	B1 = ZARCO 1L	B2 = MARGARITA 4 L	B3 = ZARCO ESPOROS	B4 = AMANDA TESTEMU
Canteiro 8	B1 = AMANDA 4 L	B2 = MARGARITA 1 L	B3 = ZARCO TESTEMUNHA	B4 = MARGARITA 3 L
Canteiro 9	B1 = AMANDA ESPOROS	B2 = ZARCO 3 L	B3 = MARGARITA 2 L	B4 = AMANDA 1 L
Canteiro 10	B1 = MARGARITA 3 L	B2 = AMANDA 1 L	B3 = ZARCO 2 L	B4 = MARGARITA 4 L
Canteiro 11	B1 = ZARCO 4 L	B2 = MARGARITA ESPOROS	B3 = AMANDA 2 L	B4 = ZARCO 1L
Canteiro 12	B1 = MARGARITA TESTEMU	B2 = ZARCO ESPOROS	B3 = AMANDA 3 L	B4 = AMANDA 3 L
Canteiro 13	B1 = ZARCO 3 L	B2 = AMANDA TESTEMUNHA	B3 = ZARCO 2 L	B4 = MARGARITA TESTEMU
Canteiro 14	B1 = AMANDA TESTEMUNHA	B2 = MARGARITA 2 L	B3 = MARGARITA ESPOROS	B4 = ZARCO 3 L
Canteiro 15	B1 = AMANDA ESPOROS	B2 = ZARCO 1L	B3 = MARGARITA 3 L	B4 = AMANDA 4 L
Canteiro 16	B1 = MARGARITA 1 L	B2 = AMANDA 2 L	B3 = ZARCO TESTEMUNHA	B4 = MARGARITA 4 L
Canteiro 17	B1 = ZARCO TESTEMUNHA	B2 = MARGARITA 3 L	B3 = ZARCO ESPOROS	B4 = AMANDA 4 L
Canteiro 18	B1 = AMANDA ESPOROS	B2 = AMANDA 3 L	B3 = ZARCO 4 L	B4 = MARGARITA 2 L

3.9. Estudo Preliminar do Controle Biológico de *Meloidogyne hapla* Utilizando Fungos Nematófagos em Estufa de Cultivo de Roseira

O experimento foi instalado na região de Andradas – MG, em uma fazenda de produção de rosas para exportação e para o mercado interno, numa propriedade de cerca de 13 ha de estufas. Nesse local, a presença de *M. hapla* em alguns canteiros ou cochos das estufas tem diminuído a produção a menos da metade em relação às áreas não-infestadas, conforme as informações verbais do técnico responsável pela produção.

A população de *M. hapla* foi previamente identificada com base na morfologia da região labial de machos e na configuração perineal de fêmeas, observados ao microscópio óptico composto, e no fenótipo isoenzimático de esterase, obtido pela técnica de ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU (1990), utilizando-se de um sistema tradicional de eletroforese vertical Mini Protean II da BIO-RAD.

Com a finalidade de minimizar as perdas causadas por *M. hapla*, foi utilizada a mistura de fungos nematófagos aplicados na forma de arroz colonizado por *A. oligospora* e *A. musiformis* na rizosfera de plantas cultivadas em cochos contendo substrato orgânico. O experimento foi conduzido no período de 31-05 a 23-07 de 2004.

O inóculo dos fungos foi preparado como descrito nos casos anteriores, tendo sido empregados os seguintes tratamentos:

1. 0,5 litro da mistura de arroz colonizado pelos fungos;
2. 1,0 litro da mistura de arroz colonizado pelos fungos;
3. 1,5 litro da mistura de arroz colonizado pelos fungos;
4. Testemunha.

A área experimental utilizada foi em canteiros suspensos dois a dois, denominados de cochos. Foram utilizadas 19 parcelas, tendo cada parcela ou cocho 6 m de comprimento por 0,15 m de largura por 0,20 m de altura (Figura 6). O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições.



Figura 6. Estufa de rosas na região de Andradas – MG, infestada por *Meloidogyne hapla*. A) Vista geral dos canteiros na área experimental. B e C) Canteiros suspensos dois a dois, denominados de cochos. D) Aplicação no cocho da mistura de arroz colonizado por *A. musiformis* e *A. oligospora*, no sulco preparado no substrato.

Após a marcação das parcelas, imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, foram coletadas quatro amostras simples para a formação de uma amostra composta de substrato e raízes para cada parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides. Depois de 60 dias após a aplicação dos fungos, repetiu-se essa amostragem para a verificação do nível populacional do nematóide. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de substrato pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, a população de nematóides nas amostras foi estimada ao microscópio óptico composto com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em $\text{Log}(x+1)$, conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.10. Estudo do Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* Utilizando Fungos Nematófagos em Cultivo de Alface Americana sob Estufa

Na região de Itápolis-SP, em estufas para produção de alface americana (Figura 7), entre os maiores problemas estão os danos causados por *M. incognita* (Figura 8) e *R. reniformis*. Segundo informações de um dos proprietários, os pés de alface produzidos em canteiros com os nematóides têm uma perda no seu peso de, pelo menos, 50%.

A população de *M. incognita* foi previamente identificada com base na morfologia da região labial de machos e na configuração perineal, observados ao microscópio óptico composto, e no fenótipo isoenzimático de esterase, obtido pela técnica de ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU (1990), utilizando-se de um sistema tradicional de eletroforese vertical Mini Protean II da BIO - RAD. Para identificar a população



Figura 7. Vista geral do interior de uma estufa de alface americana na região de Itápolis-SP.



Figura 8. Sintoma típico da infecção por *Meloidogyne incognita* em raízes de alface americana expresso na forma de galhas.

de *R. reniformis* utilizaram-se fêmeas jovens e a chave dicotômica proposta por ROBINSON et al. (1997).

Com o objetivo de diminuir as perdas causadas por esses nematóides, foi instalado um experimento para a avaliação da eficácia dos fungos nematófagos *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, no período de 15-06 a 24-08 de 2004, utilizando-se da mesma metodologia descrita nos casos anteriores.

A área experimental utilizada foi de um canteiro de 50 m de comprimento e 1 m de largura. Esse canteiro foi dividido em 10 parcelas, sendo 5 m de comprimento para cada parcela. Os tratamentos adotados a partir da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *A. musiformis* e *A. oligospora* foram com duas doses, a saber: 2 e 4 L do arroz colonizado por parcela, com quatro repetições, e o tratamento-testemunha sem aplicação dos fungos, com duas repetições, face à limitação da área disponível para o teste, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado.

Imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, após a marcação das parcelas, foram coletadas dez amostras simples de solo para a formação de uma amostra composta por parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides.

Os tratamentos foram aplicados, distribuindo-se, manualmente, de forma homogênea, todo o substrato colonizado ao longo da parcela, em três sulcos eqüidistantes abertos no canteiro (Figura 9), promovendo-se leve incorporação ao solo com um rastelo.

Cerca de 15 dias após a aplicação dos fungos, mudas de alface americana cultivar Lucy Brown, com 21 dias, foram transplantadas para o canteiro no espaçamento 0,30 x 0,30 m. Uma semana após a aplicação dos fungos, o local do experimento foi inspecionado. O aspecto da colonização do solo pelos fungos, na oportunidade, foi documentado.

Depois de 54 dias do transplântio, avaliaram-se as massas da matéria fresca da parte aérea e das raízes de 10 plantas de alface coletadas aleatoriamente nas parcelas tratadas e não-tratadas. Avaliaram-se, também, a população inicial dos nematóides (antes da aplicação dos fungos) em alíquotas de 100 cm³ das amostras de solo e a



Figura 9. Aplicação da mistura de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* no canteiro experimental de alface americana cultivar Lucy Brown, infestado por *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis*.

população no momento da avaliação final, em alíquotas de 100 cm³ das amostras de solo e em 10 g de raízes.

Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, as populações de nematóides nas amostras foram estimadas ao microscópio óptico composto com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.11. Avaliação Preliminar de Diferentes Substratos para Formulação de Fungos Nematófagos

A escolha de um produto ou subprodutos, ou misturas desses, que favoreça o rápido crescimento e esporulação dos fungos e que seja de baixo custo, é de fundamental importância para o processo de formulação desses fungos. Materiais como arroz, casca de arroz, farelo de arroz, bagaço de cana, o subproduto da indústria de cerveja (Kaiser) e sementes de goiaba sem triturar e trituradas, subproduto da indústria de doce de goiaba foram testados, isolados ou em combinação, para a produção de uma formulação dos fungos nematófagos.

Um estudo prévio foi realizado, enfocando as combinações possíveis e consideradas mais adequadas para a multiplicação dos fungos. Também, foi levado em consideração o custo de cada um desses produtos, para a determinação da melhor opção de substrato a ser utilizado. Os seguintes tratamentos foram testados:

1. 428 g de arroz : 200 mL de água;
2. 1 L de casca de arroz : 200 mL de água;

3. 1 L de casca de arroz : 1 L de farelo de arroz : 400 mL de água;
4. 1 L de casca de arroz : ½ L de farelo : 200 mL de água;
5. 1 L de bagaço de cana : 200 mL de água;
6. 1 L de bagaço de cana : 1 L de farelo de arroz : 400 mL de água;
7. 1 L de bagaço de cana : ½ L de farelo de arroz : 200 mL de água;
8. 1,5 L do subproduto da indústria de cerveja sem água;
9. 1 L de subproduto da indústria de cerveja : 500 mL de farelo de arroz (s/ água);
10. 1 L de sementes de goiaba (sem triturar) : 100 mL de água;
11. 1 L de sementes de goiaba (sem triturar) : ½ L de farelo de arroz: 200 mL de água;
12. 1 L de sementes de goiaba (trituradas) : 100 mL de água;
13. 1 L de sementes de goiaba (trituradas) : ½ L de farelo de arroz : 200 mL de água.

Os diferentes produtos foram colocados em sacos de polipropileno autoclaváveis, acrescidos das quantidades de água, e os recipientes foram fechados, em seguida, com um grampeador, após duas ou três dobras da extremidade aberta. Como já havia sido observado no decorrer desses estudos que os fungos colonizam mais o substrato do lado da abertura do saco que na porção ao fundo, provavelmente, dada à maior eficácia nas trocas gasosas, três possibilidades de aberturas do saco de polipropileno foram testadas, a saber: à frente, ao fundo e em um dos lados, fechando o recipiente nessas faces por meio de duas dobras e uso de grampeador. Após o acondicionamento dos diferentes materiais nos sacos, procedeu-se ao tratamento do material em autoclave a 121 °C e 1 atm, por 40 minutos. Após o resfriamento, os sacos foram levados para uma câmara de fluxo laminar para inoculação em condições assépticas.

Adicionaram-se cerca de 10 mL de água esterilizada às placas de culturas puras de *A. oligospora* e, com auxílio da alça de Drigalski, raspou-se a superfície das culturas. Após a raspagem e retirada da suspensão de micélio e conídios, o volume foi ajustado para 120 mL de suspensão em água esterilizada. Em seguida, com auxílio de uma pipeta de Pasteur descartável e esterilizada de 3 mL, procedeu-se à inoculação de 3 mL da suspensão em cada saco. Para cada tratamento avaliado, foram preparados 2

sacos. Após a inoculação, os sacos foram mantidos em uma sala a 25 ± 2 °C, no escuro, por 15 dias. A cada dois dias, o conteúdo dos sacos, individualmente, era misturado, manualmente, para uma colonização mais uniforme do material. Após 15 dias de incubação, procedeu-se a uma estimativa visual da porcentagem do material colonizado por recipiente.

3.12. Avaliação de Diferentes Substratos, Condição de Aeração do Acondicionamento e Formas de Tratamento para Produção de uma Formulação dos Fungos Nematófagos

Tomando-se como base os resultados obtidos no teste anterior, foram escolhidos alguns dos tratamentos para uma avaliação mais detalhada tanto da composição como das formas de tratamentos esterilizantes do substrato a ser utilizado na formulação dos fungos nematófagos. Os principais critérios na escolha dos materiais para composição do substrato foram a disponibilidade do material, o custo e o favorecimento ao crescimento dos fungos no material.

Um litro de bagaço de cana, misturado com meio litro de farelo de arroz e bagaço puro, acrescidos de 200 mL de água foram acondicionados em sacos de polipropileno com as seguintes dimensões: 35 cm de altura x 25,5 cm de largura, para o tratamento em autoclave. Para o tratamento do substrato com irradiação, foram utilizados sacos de polietileno com as dimensões de 60 cm de altura x 42 cm de largura. Ambas as embalagens foram fechadas com grampeador, utilizando-se de três grampos eqüidistantes após duas dobras na extremidade aberta das embalagens. Uma variação desses tratamentos também foi testada, constituída dos mesmos materiais e embalagens, mas com fechamento dos recipientes com dobras e uso de grampeador nas duas extremidades das embalagens. Os tratamentos de esterilização dos substratos foram autoclavagem a 120 °C e 1 atm, por 40 minutos, realizados no Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV e esterilização do substrato com irradiação. A irradiação foi efetuada com radioisótopo cobalto-60, nas doses de 5, 25 e 50 kGy, nas instalações

da empresa especializada CBE (Companhia Brasileira de Esterilização), com sede em Jarinu – SP.

A CBE utiliza o tratamento com energia ionizante que consiste em expor os produtos às ondas eletromagnéticas curtas, de alto poder de penetração. Essas ondas penetram em qualquer tipo de embalagem e produto, rompem a cadeia de DNA dos microrganismos, eliminando-os ou impedindo que eles se reproduzam. Devido ao alto poder de penetração da radiação nos mais diversos materiais, o processo pode ser executado com os produtos em suas embalagens finais, em câmaras especiais de alta segurança, garantindo uma esterilização eficaz e segura. Outra característica do processo é que não deixa resíduo tóxico, sendo que os produtos podem ser utilizados imediatamente após a esterilização.

Os seguintes materiais e formas de tratamento foram utilizados para formulação de *A. oligospora* e *P. lilacinus*:

1. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – uma abertura - autoclavado (F AUTO I);
2. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – duas aberturas - autoclavado (F AUTO II);
3. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – uma abertura – 50 kGy (F 50 I);
4. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – duas aberturas – 50 kGy (F 50 II);
5. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – uma abertura – 25 kGy (F 25 I);
6. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – duas aberturas – 25 kGy (F 25 II);
7. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – uma abertura – 5 kGy (F 5 I);
8. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – duas aberturas – 5 kGy (F 5 II);

9. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – uma abertura – Testemunha (F TESTEMUNHA I);
10. 1 L de bagaço de cana : 500 mL de farelo de arroz : 200 mL de água – duas aberturas – Testemunha (F TESTEMUNHA II);
11. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – uma abertura - autoclavado (F AUTO I);
12. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – duas aberturas - autoclavado (F AUTO II);
13. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – uma abertura – 50 kGy (F 50 I);
14. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – duas aberturas – 50 kGy (F 50 II);
15. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – uma abertura – 25 kGy (F 25 I);
16. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – duas aberturas – 25 kGy (F 25 II);
17. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – uma abertura – 5 kGy (F 5 I);
18. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – duas aberturas – 5 kGy (F 5 II);
19. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – uma abertura – Testemunha (F TESTEMUNHA I);
20. 1,5 L de bagaço de cana : 200 mL de água – duas aberturas – Testemunha (F TESTEMUNHA II).

Após os substratos receberem os tratamentos de esterilização, foi feito plaqueamento de uma porção do substrato em BDA (batata dextrose ágar), em condições assépticas, para a avaliação da presença de contaminantes (fungos, bactérias ou outros microrganismos), uma semana após o plaqueamento. Cerca de 21 dias após a inoculação do substrato, avaliou-se a percentagem de colonização visual do material pelos fungos nematófagos. Para a avaliação da esporulação, 10 g de cada substrato colonizados foram transferidos para um vidro contendo 100 mL de uma solução de Tween 20 em água destilada e esterilizada e agitados manualmente por 2 minutos. A suspensão foi passada em uma gaze e, em seguida, estimou-se a concentração de conídios em câmara de Newbauer com auxílio de um microscópio óptico composto. Para os tratamentos que não exibiram a presença de contaminantes no substrato esterilizado, foi feito plaqueamento de uma porção do substrato em ágar-

água (AA) a 2%, em condições assépticas. Dez dias depois, foi confirmado se o crescimento micelial nos substratos era dos fungos nematófagos inoculados ou de contaminantes, com base na morfologia dos conídios e dos conidióforos. Após essa avaliação, nas mesmas placas em que se constatou a presença de *A. oligospora*, foi colocada uma suspensão de 1 mL contendo 200 *Panagrellus* sp. por placa. Nas placas onde se constatou *P. lilacinus*, colocou-se uma suspensão de 1 mL contendo 200 ovos de *M. javanica* por placa. Quatro dias depois, foram avaliados os números de *Panagrellus* sp. predados e o de ovos de *M. javanica* parasitados por placa, para a determinação da percentagem de nematóides predados e de ovos parasitados. Todos esses estudos foram realizados em condição de temperatura ambiente do Laboratório de Nematologia, onde as médias das máximas e das mínimas no período foram de 23,2 e 22,4 °C, respectivamente.

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.13. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo Protegido de Tomateiro Cereja Orgânico com *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*

O experimento foi conduzido no Município de Itápolis - SP, em uma estufa de produção comercial de tomate cereja infestada por *M. incognita*. Foi testada a mistura de partes iguais de bagaço de cana enriquecido com farelo de arroz na proporção de 2:1, colonizada, individualmente, pelos fungos *A. musiformis*, *A. oligospora* e *P. lilacinus*.

A partir de cultura pura dos fungos *A. musiformis*, *A. oligospora* e *P. lilacinus* mantida em tubos de ensaio, transferiu-se, com auxílio de um estilete flambado, uma pequena porção da colônia para placas de Petri contendo ágar-água a 2%. Essas placas foram mantidas em estufa do tipo BOD a 25 ± 1 °C, por 15 dias, no escuro. Após esse período, quando os fungos apresentaram esporulação abundante, estruturas

reprodutivas dos fungos (conídios) foram transferidas para placas de Petri contendo BDA, e as placas foram mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente, por 12 dias. A seguir, foram adicionados 24 mL de água destilada esterilizada em cada placa e, com auxílio de uma alça de Drigalski, foi removido o micélio da superfície do meio. Em câmara de fluxo laminar, foram inoculados, com auxílio de uma pipeta de Pasteur descartável, 6 mL da suspensão obtida em 1 L de bagaço de cana, ½ L de farelo de arroz e 300 mL de água, autoclavados a 121 °C a 1 atm, durante 40 minutos, em sacos de polipropileno autoclaváveis.

Para a inoculação do substrato, efetuou-se um orifício no saco de polipropileno, aplicou-se a suspensão de estruturas do fungo com uma pipeta de Pasteur, lacrou-se o saco com uma fita adesiva e incubou-se a cultura em sala escura com temperatura ambiente de cerca de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 15 dias, até a colonização total do substrato. Periodicamente, esses sacos foram revolvidos para a homogeneização da colonização do substrato pelo fungo. Ao final, quantidades iguais de substrato colonizado individualmente pelos fungos foram misturadas e, conforme o tratamento, partes dessa mistura foram retiradas para aplicação nas parcelas como inóculo.

O experimento foi instalado em cultura sob estufa, no período 24-10-2005 a 16-04-2006. A área experimental utilizada foi de quatro canteiros de 100m de comprimento e 0,4 m de largura. Quatro parcelas de 6 m de comprimento foram demarcadas, em cada um dos canteiros, em pontos mais infestados da estufa, previamente identificados pelo produtor com base nos sintomas observados nas plantas no cultivo anterior de tomateiro expressos na forma de crescimento comprometido das plantas e presença de galhas nas raízes (Figura 10). A espécie presente foi *M. incognita*, identificada com base nos caracteres morfológicos do padrão perineal (TAYLOR & NETCHER, 1974), na morfologia da região labial de machos (EISENBACK et al., 1981) e no fenótipo isoenzimático para esterase, conforme ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU (1990).

Os tratamentos adotados foram preparados a partir da mistura de partes iguais de bagaço de cana com farelo de arroz, na proporção de 2:1, previamente autoclavado, inoculado e colonizado individualmente pelos fungos *A. musiformis*, *A. oligospora* e *P. lilacinus*, conforme descrição detalhada a seguir:



Figura 10. Sintoma típico da infecção por *Meloidogyne incognita* em raízes de tomateiro, expresso na forma de galhas.

1. 3 L da mistura por parcela;
 2. 6 L da mistura por parcela;
- T. Testemunha (T) = sem o tratamento com os fungos.

Os tratamentos com quatro repetições foram distribuídos no delineamento inteiramente casualizado e aplicados em 24-10-2005, manualmente, de forma homogênea ao longo de cada parcela, promovendo-se leve incorporação com o auxílio de um rastelo. Em seguida, todas as parcelas, inclusive a Testemunha (sem o tratamento com os fungos) foram cobertas com bagaço de cana (Figura 11).

Após a marcação das parcelas e antes da aplicação dos tratamentos, foram coletadas quatro amostras simples para a formação de uma amostra composta de solo de cada parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides em 100 cm³ das amostras de solo. As mudas de tomate tipo cereja 'Sindy', com 25 dias da germinação, foram transplantadas nos canteiros, aos 13 dias após a aplicação dos tratamentos, em 07-11-2005.

Quando as plantas iniciaram a produção (Figura 12), foram avaliadas a produtividade média das parcelas tratadas e não-tratadas, além das amostragens do solo e de raízes, aos 45 e 90 dias, para a verificação dos níveis de população dos nematóides. Para essas avaliações, uma amostra composta foi formada a partir de quatro amostras simples de solo e raízes coletadas entre as plantas ao longo da parcela.

Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo, pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, as populações de nematóides nas amostras foram estimadas ao microscópio óptico composto com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970). As populações de nematóides identificadas nas amostras de solo e raízes foram: *M. incognita*, *P. brachyurus*, *P. zaeae*, *R. reniformis*, *H. dihystra* e *Tylenchus* sp. A identificação da população de *R. reniformis*



Figura 11. Aplicação da mistura do bagaço colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, em canteiro experimental com tomate cereja cultivar Sindy, no Município de Itápolis - SP, infestado por *Meloidogyne incognita*.

A**B****C**

Figura 12. Tomateiros cereja cultivar Sindy, cultivadas em canteiros infestados por *Meloidogyne incognita*, previamente tratados com a mistura de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*. A) Plantas florescendo com 45 dias após o transplante. B e C) Plantas em plena produção com 90 dias após o transplante.

foi feita com base em caracteres morfológicos de fêmeas jovens utilizando-se da chave dicotômica proposta por ROBINSON et al. (1997). As populações de *P. brachyurus* e *P. zae* foram identificadas com base na morfologia de fêmeas adultas, utilizando-se da chave dicotômica proposta por SANTOS et al. (2005). Para a identificação da população de *H. dihystra*, caracteres morfológicos de fêmeas adultas do nematóide foram comparados com a descrição de características morfológicas de fêmeas da espécie, conforme SIDDIQI (1972). Embora diferentes gêneros e espécies tenham sido identificados nas amostras, as populações de *M. incognita*, *P. brachyurus*, *P. zae*, *R. reniformis* e *H. dihystra* apresentaram os maiores níveis de população no solo. Por conseguinte, sobre essas populações, foi posta maior ênfase na avaliação.

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em $\text{Log}(x+1)$, conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3.14. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo de Quiabeiro Orgânico com *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*

Em áreas de produção comercial de cultivos orgânicos no Município de Itápolis - SP, onde os nematóides, notadamente *Meloidogyne* spp., são o principal problema para o cultivo de quiabeiro (Figuras 13 e 14), escolheu-se uma área infestada por *M. incognita* para condução desse experimento. Foi utilizadas a mistura de partes iguais do substrato constituído de bagaço de cana misturado com farelo de arroz, na proporção de 2:1, colonizado individualmente pelos fungos *A. musiformis*, *A. oligospora* e *P. lilacinus*, preparado conforme descrito no item 3.13.

A área experimental utilizada foi de 16 linhas de 3 m de comprimento, em área previamente marcada pelo produtor, utilizando as plantas com sintomas da infecção por *M. incognita* na parte aérea e nas raízes, no cultivo anterior, como indicativo para escolha das áreas. O experimento foi conduzido no período de 13-09-2005 a 1º-02-2006. Os tratamentos adotados foram:



Figura 13. Área cultivada com quiabo orgânico na região de Itápolis – SP, com alta infestação por *Meloidogyne incognita*, utilizada para condução do experimento sobre o controle biológico de nematóides com fungos nematófagos.



Figura 14. Sintoma típico da infecção por *Meloidogyne incognita* em raízes de quiabeiro, na região de Itápolis - SP.

1. 4 L da mistura da mistura de partes iguais do substrato colonizado, individualmente, pelos fungos por parcela;
- T. Testemunha (T) = sem o tratamento com os fungos.

Os tratamentos foram aplicados nas parcelas, em 13-09-2005, manualmente, de forma homogênea ao longo da parcela (Figura 15), promovendo-se leve mistura e incorporação com a ajuda de um rastelo. Em seguida, todas as parcelas, inclusive a Testemunha (sem tratamento com os fungos), foram cobertas com palhada de capim. Após a marcação das parcelas, imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, foram coletadas três amostras simples para a formação de uma amostra composta de solo por parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides em 100 cm³ das amostras. As mudas de quiabeiro cultivar Santa Cruz, com 15 dias da germinação, foram transplantadas nos canteiros, aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos, em 28-09-05, tendo sido adotado o delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições para cada tratamento.

Após o transplântio das mudas, foram feitas amostragens do solo e de raízes aos 45 e 90 dias, para a verificação dos níveis das populações dos nematóides e da eficácia do controle com os fungos nematófagos. Para essas avaliações, uma amostra composta foi formada a partir de três amostras simples de solo e raízes coletadas entre as plantas ao longo de cada parcela.

Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo, pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, as populações de nematóides nas amostras foram estimadas ao microscópio óptico composto, com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970) e identificadas conforme descrito no item anterior.

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



Figura 15. Aplicação da mistura de partes iguais do substrato colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus* na linha experimental a ser cultivada com quiabeiro cultivar Santa Cruz, na região de Itápolis-SP, em área infestada por *Meloidogyne incognita*.

3.15. Controle Biológico de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira com *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactylella* sp.

Relatos recentes da ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* infectando as raízes de goiabeira (*Psidium guajava*), desde o sul até as regiões norte e nordeste do Brasil, dão conta de que esse nematóide vem ameaçando a rentabilidade e até mesmo a viabilidade da cultura da goiabeira no País (CARNEIRO et al., 2001; LIMA et al., 2003; TORRES et al., 2004 e 2005). Importantes regiões produtoras de goiaba já constataram a presença desse nematóide, tais como a região de Petrolina – PE, e nos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo, que é o maior produtor de goiaba do Brasil. Essa espécie não é problema apenas para a cultura da goiaba, mas apresenta ampla gama de hospedeiros, incluindo culturas e plantas daninhas, tais como: ornamentais, café (*Coffea* sp), mamão (*Carica papaya* L.), acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), araçá (*Psidium* sp.), soja (*Glycine max* (L.) Merrill), feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), feijão caupi (*Vigna unguiculata* Walp.), tomate, pimentão, fumo (*Nicotiana tabacum* L.), abóbora (*Cucurbita moschata* Duchesne), melancia (*Citrullus vulgaris* Schrad.), melão (*Cucumis melo* L.), fedegoso (*Senna* sp.), serralha (*Emilia sonchifolia* (L.) DC. ex Wight.), beldroega pequena (*Chamaesyce prostrata* Ait.), urtiga (*Cnidioscolus urens* (L.) Arthur) e maracujá do mato (*Passiflora mucronata* Lam.), conforme relatos anteriores (MARANHÃO, 2001; MEDEIROS et al., 2003; LIMA et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2003). Em 2004, em área irrigada de produção de goiaba variedade Pedro Sato, da empresa VAL FRUTAS, na região de Monte Azul Paulista – SP, foi constatada alta infestação no solo por *M. mayaguensis* e infecção de raízes exibindo extensas necroses (Figura 16). A alta infecção do sistema radicular das plantas resulta em severo comprometimento à absorção e transporte de água e nutrientes com conseqüente depauperamento geral das plantas, conforme ilustrado na Figura 17. As folhas apresentam coloração avermelhada (Figuras 18 e 19) e os frutos não se desenvolvem satisfatoriamente (Figura 20), comprometendo a produção, especialmente quanto à qualidade dos frutos destinados ao consumo *in natura*. Até a morte de plantas foi



Figura 16. Raízes de goiabeira variedade Pedro Sato, exibindo galhas formadas por *Meloidogyne mayaguensis*, coletadas no Município de Monte Azul Paulista – SP.

A



B



Figura 17. Plantas de goiabeira variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP. A) Planta doente, apresentando desenvolvimento comprometido, clorose generalizada e menor número de folhas, face à alta infecção das raízes por *Meloidogyne mayaguensis*. B) Planta sadia.



Figura 18. Folhas avermelhadas em goiabeira variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP, exibindo os sintomas típicos de alta infecção nas raízes por *Meloidogyne mayaguensis*.



Figura 19. Ramos de goiabeira variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP. A) Folhas avermelhadas, exibindo os sintomas iniciais na parte aérea, típicos da infecção de raízes por *Meliodogyne mayaguensis*. B) Folhas sadias.



Figura 20. Folha avermelhada e fruto com tamanho reduzido, sintomas típicos de alta infecção de *Meloidogyne mayaguensis* nas raízes de goiabeira, variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP.

constatada na área, devido à alta população do nematóide, levando à formação de reboleiras no pomar (Figura 21), aumentando ainda mais o prejuízo para a empresa. Esses fatos levaram o técnico responsável a procurar uma opção de manejo do nematóide no Laboratório de Nematologia da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Por se tratar de uma cultura perene, para a qual não existem nematicidas químicos registrados, a utilização de um porta-enxerto resistente e o controle biológico seriam as principais opções a serem testadas. Diante do exposto, foi testada a mistura de partes iguais de bagaço de cana e farelo de arroz colonizado individualmente por *A. musiformis*, *A. oligospora*, *P. lilacinus* e *Dactylella* sp.

A partir de culturas puras dos fungos *A. musiformis*, *A. oligospora*, *P. lilacinus* e *Dactylella* sp., preparou-se uma formulação desses fungos como descrito no item 3.14. O experimento, visando à avaliação da eficácia do controle biológico de *M. mayaguensis* e *H. dihystra*, previamente constatados no pomar, utilizando esses fungos nematófagos, foi instalado em uma área irrigada de produção comercial de goiaba para mesa de cinco anos de idade, variedade Pedro Sato, de propriedade da empresa VAL FRUTAS, na região de Monte Azul Paulista – SP, no período de 22-09-2005 a 26-01-2006.

Cada parcela continha quatro árvores contíguas, no espaçamento de 7 m entre linhas e 5 m entre plantas, sendo que, para a avaliação do efeito dos tratamentos, foram consideradas as duas plantas centrais como a área útil. Os tratamentos com os fungos foram preparados a partir da mistura de partes iguais do substrato colonizado, individualmente, por esses agentes, a saber:

1. 4 L da mistura de partes iguais de bagaço de cana e farelo de arroz, colonizada, individualmente, pelos fungos mencionados por planta;
2. 8 L da mesma mistura, por planta;
3. 150 g de Aldicarb, por planta;
4. Testemunha (T) = sem qualquer tratamento.

Antes da aplicação dos tratamentos nas parcelas, no dia 22-09-2005, foi feita uma trituração prévia das doses de 4 e 8 L da mencionada formulação dos fungos



Figura 21. Reboleira em pomar de goiabeira, variedade Pedro Sato, na região de Monte Azul Paulista – SP, exibindo plantas que foram submetidas a uma poda drástica na tentativa de se controlar a população de *Meloidogyne mayaguensis*.

nematófagos com 25 kg de sementes trituradas de goiaba, obtida na indústria VAL FRUTAS, utilizando-se de uma picadeira de capim acoplada à tomada de força de um trator. Para os tratamentos-testemunha e o tratamento com Aldicarb, também foram aplicados os 25 kg de semente de goiaba triturada/planta. Todas as plantas da parcela receberam seu respectivo tratamento. As misturas foram aplicadas manualmente sob a copa das árvores, promovendo-se leve incorporação com um rastelo e cobrindo o solo com restos de folha da goiabeira e palha de capim. O Aldicarb foi aplicado utilizando-se de uma matraca, distribuindo-se o produto de forma homogênea, em 8 pontos, na projeção da copa das plantas (Figura 22). Todos os frutos das árvores foram removidos imediatamente antes da aplicação dos tratamentos.

Após a marcação das parcelas, imediatamente antes da aplicação dos tratamentos, foram coletadas oito amostras simples para a obtenção de uma amostra composta de solo e de raízes por parcela, tendo em vista a determinação da população inicial dos nematóides em 100 cm³ das amostras de solo e em 10 g de raízes. Além da amostragem inicial, também se repetiu essa mesma amostragem aos 60 e 120 dias após a aplicação dos tratamentos. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia, onde foram processadas.

Os nematóides foram extraídos das amostras de solo, pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e das raízes, pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, as populações de nematóides nas amostras foram estimadas ao microscópio óptico composto com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970).

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em Log (x+1), conforme BARBOSA (2001), e submetidos à análise de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



A



B



C



D

Figura 22. Aplicação dos tratamentos na projeção da copa de goiabeira variedade Pedro Sato, infectada por *Meloidogyne mayaguensis*, na região de Monte Azul Paulista – SP. A) Testemunha (25 kg de sementes de goiaba trituradas/planta). B e C) Doses de 4 e 8 L da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por fungos nematófagos mais 25 kg de sementes. D) Aldicarb 150 g mais 25 kg de sementes trituradas/árvore.

3.16. Teste - Piloto para o Manejo de *Meloidogyne javanica* em Plantio Comercial de Crisântemo de Corte com Fungos Nematófagos em Ambiente Protegido em Holambra - SP

Os nematóides de galha (*Meloidogyne* spp.) estão entre os principais problemas no cultivo de crisântemo de corte, em ambiente protegido. A fumigação do solo com brometo de metila, o principal método de manejo disponível, em nossas condições, além de caro, envolve alta periculosidade. O controle biológico de nematóides em ambiente protegido é favorecido pelas condições locais em tais ambientes e poderia ser uma alternativa viável para o manejo dessas pragas.

A população de *M. javanica* foi previamente identificada com base na morfologia da região labial de machos e na configuração perineal, observados ao microscópio óptico composto, e no fenótipo isoenzimático de esterase, obtido pela técnica de ESBENSHADE & TRIANTAPHYLLOU (1990), utilizando-se de um sistema tradicional de eletroforese vertical Mini Protean II da BIO-RAD.

Uma mistura de partes iguais do substrato colonizado individualmente pelos fungos *A. musiformis*, *A. oligospora*, *D. leptospora*, *M. robustum* e *P. lilacinus* foi empregada, à razão de 1L da mistura para 100 L dos substrato constituído por palha de arroz pré-carbonizada, utilizado para a produção das mudas. Os fungos foram formulados individualmente em 214 g de substrato à base de arroz e 100 mL de água, autoclavados em sacos de polipropileno, conforme descrito no item 3.7. Um litro de partes iguais do arroz colonizado pelos cinco fungos, individualmente, foi aplicado a 100 L do substrato utilizado para a produção das mudas. O material contendo os fungos foi vigorosamente misturado ao substrato para a produção das mudas (Figura 23 A), e a seguir, as bandejas foram preenchidas com esse material para produção das mudas (Figura 23 B). Quando as mudinhas atingiram 20 dias de idade e estavam aptas para o transplântio, o substrato utilizado para a produção das mudinhas estava completamente colonizado pelos fungos (Figura 23 C e D). Então, foram transplantadas nos canteiros infestados por *M. javanica* (Figura 23 E e F). O crescimento e o desenvolvimento das plantas nos canteiros foram acompanhados e documentados até a colheita. Esse trabalho foi efetuado em 8,8 ha de estufa de crisântemo de corte no decorrer de sete quinzenas.



Figura 23. Produção de mudas de crisântemo de corte protegidas contra nematóides pela aplicação de fungos nematófagos no substrato. A) Substrato constituído de palha de arroz pré-carbonizada com aplicação de 1 L da mistura de partes iguais do material colonizado, individualmente, por cinco fungos nematófagos para 100 L do substrato. B) Bandejas contendo o substrato ao qual foi adicionada a mistura de fungos nematófagos. C) Mudas produzidas no substrato contendo os fungos nematófagos. D) Evidências da colonização do substrato das mudas pelos fungos nematófagos. E e F) Canteiros infestados por *Meloidogyne javanica* plantados com as mudas produzidas em substrato tratado com os fungos nematófagos.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Detecção, Isolamento e Manutenção das Culturas Puras dos Fungos Nematófagos

Os fungos nematófagos predadores *Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis* e *Monacrosporium* sp. foram isolados da rizosfera de plantas de diferentes culturas (Tabela 1), os quais foram identificados, utilizando-se de chaves de identificação de espécies, segundo HAARD (1968), VAN OORSCHOT (1985), LIU & ZHANG (1994) e publicações das descrições originais de vários fungos (McCULLOCH, 1977; DRECHSLER, 1937; DRECHSLER, 1961). Então, os conídios e/ou estruturas características desses fungos foram documentados (Figura 24), e um ou mais isolados de cada um deles foram incorporados à coleção de fungos nematófagos mantida no laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV.

Entre as 42 amostras plaqueadas, encontraram-se, em 28 delas, pelo menos, uma, duas ou até três espécies de fungos nematófagos predadores numa única amostra, correspondendo a 67% do total de amostras analisadas. Em apenas 33% do total, correspondendo a 14 amostras, não foi detectada a presença de nenhum fungo nematófago predador (Tabela 1).

Avaliações prévias de isolados de *A. musiformis*, *A. oligospora*, *Dactylella leptospora*, *M. robustum* e *P. lilacinus*, frente aos nematóides *M. javanica*, *M. incognita* e *R. reniformis* foram efetuadas no mencionado laboratório e confirmaram o potencial desses fungos como agentes do biocontrole de algumas espécies de *Meloidogyne* e outros nematóides (MAIA, 2000; MAIA, 2001; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002). Alguns desses isolados mais patogênicos a diferentes nematóides foram formulados, inicialmente em arroz, para testes em estufas de produção de hortaliças ou em áreas de agricultura orgânica.

Tabela 1. Amostras de solo de diferentes culturas e regiões dos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e Goiás utilizadas para detecção, isolamento e identificação de fungos nematófagos predadores.

AMOSTRA	LOCAL COLETA	HOSPEDEIRO	FUNGOS
L.1528/03	Taquaral - SP	Tomateiro	ausentes
L.1529/03	Taquaral - SP	Tomateiro	<i>Arthrobotrys oligospora</i>
L.1667/03	Linhares - ES	Mamoeiro	<i>A. oligospora</i> e <i>Monacrosporium</i> sp.
L.1670/03	Pirajuí - SP	Pimentão	Ausentes
L.1671/03	Pirajuí - SP	Pimentão	Ausentes
L.1722/03	Birigui - SP	Quiabeiro	Ausentes
L.1723/03	Jales - SP	Uva	Ausentes
L.1724/03	Jales - SP	Uva	<i>A. musiformis</i>
L.1725/03	Tapira - MG	Não informado	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.1782/03	C. Gomes - MG	Citros	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.1788/03	Urupês - SP	Citros	<i>A. oligospora</i>
L.1790/03	Urupês - SP	Citros	<i>A. oligospora</i>
L.1791/03	Urupês - SP	Citros	<i>A. oligospora</i>
L.1795/03	Urupês - SP	Citros	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.1796/03	Urupês - SP	Citros	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.1810/03	Cristalina - GO	Não informado	Ausentes
L.1818/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	Ausentes
L.1819/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	<i>A. oligospora</i> e <i>Monacrosporium</i> sp.
L.1821/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	<i>A. oligospora</i>
L.1822/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	Ausentes
L.1824/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	<i>Monacrosporium</i> sp.

C. Gomes = Comendador Gomes

Continuação...

AMOSTRA	LOCAL COLETA	HOSPEDEIRO	FUNGOS
L.1825/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.1833/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	Ausentes
L.1834/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	Ausentes
L.1835/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	Ausentes
L.1854/03	Ipuã - SP	Cana-de-açúcar	<i>A. oligospora</i>
L.2/04	B. de Minas - MG	Não informado	<i>A. oligospora</i>
L.42/04	B. de Minas - MG	Não informado	<i>A. oligospora</i>
L.44/04	B. de Minas - MG	Não informado	<i>A. oligospora</i>
L.46/04	B. de Minas - MG	Pimenta	<i>A. oligospora</i> e <i>Monacrosporium</i> sp.
L.47/04	B. de Minas - MG	Não informado	<i>Arthrobotrys musiformis</i>
L.48/04	B. de Minas - MG	Tomilho	Ausentes
L.49/04	B. de Minas - MG	Pimentão	<i>A. oligospora</i> e <i>Monacrosporium</i> sp.
L.50/04	B. de Minas - MG	Pimentão	<i>A. musiformis</i>
L.52/04	B. de Minas - MG	Pimentão	<i>A. musiformis</i>
L.53/04	B. de Minas - MG	Cebola (bulbo)	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.54/04	B. de Minas - MG	Pimentão	<i>A. musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>Monacrosporium</i> sp.
L.55/04	B. de Minas - MG	Cebola (folha)	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.56/04	B. de Minas - MG	Pimentão	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
L.57/04	B. de Minas - MG	Não informado	Ausentes
L.58/04	B. de Minas - MG	Pimentão	Ausentes
L.63/04	B. de Minas - MG	Manjeriçao	<i>A. oligospora</i> e <i>Monacrosporium</i> sp.

B. de Minas = Brasilândia de Minas

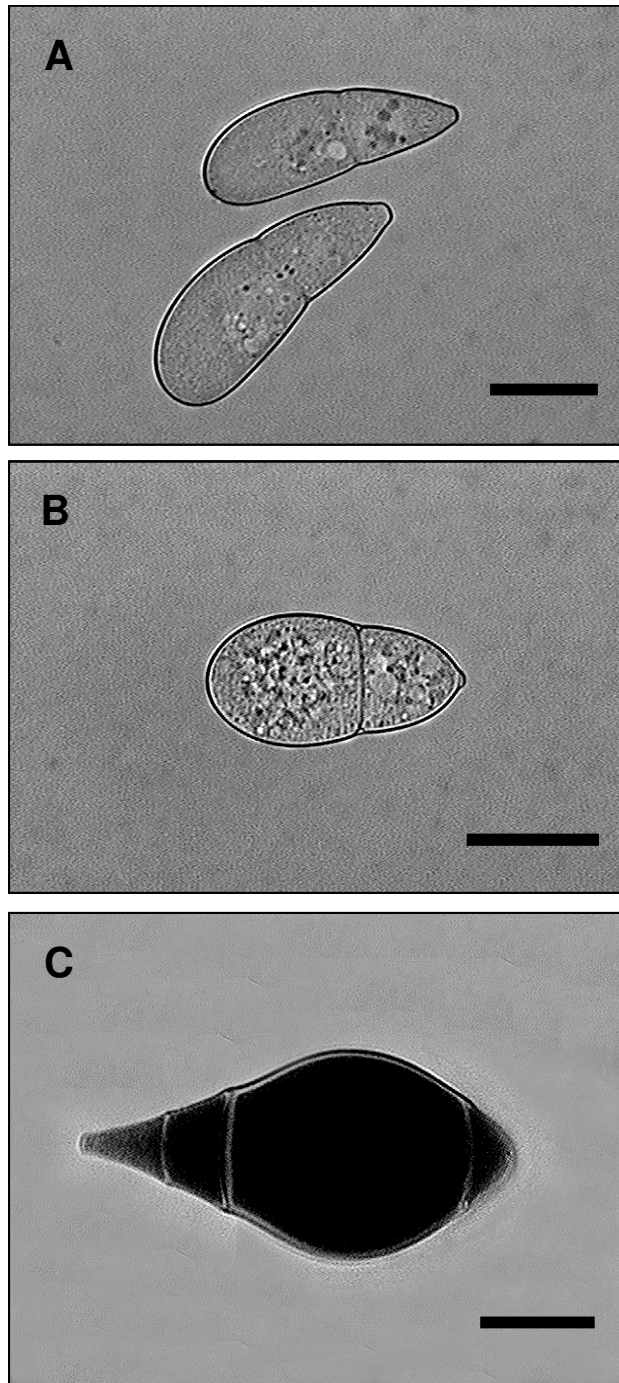


Figura 24. Fotomicrografias dos conídios de fungos nematófagos isolados de amostras de solo. A) *Arthrobotrys musiformis*. B) *Arthrobotrys oligospora*. C) *Monacrosporium* sp. (barras de escala 10 μ m)

4.2. Manutenção de Culturas Puras dos Fungos da Coleção do Laboratório de Nematologia

A coleção de fungos nematófagos predadores do Laboratório de Nematologia é composta por cinco diferentes espécies: *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Dactylella sp.*, *Monacrosporium robustum* e *Paecilomyces lilacinus*. As culturas puras desses fungos são mantidas em tubos de ensaio, no escuro, em temperatura ambiente, conforme mencionado no item 3.1. A cada ano, os fungos estão sendo repicados para placas de Petri, com ágar-água a 2%, acrescida de uma alíquota de 2 mL de suspensão concentrada de NVL. Após a predação e/ou infecção dos nematóides, os fungos são novamente isolados, em cultura pura, a partir de estruturas reprodutivas, sendo armazenados conforme mencionado no item 3.2. Conquanto o isolado de *M. robustum* da mencionada coleção tenha exibido elevada patogenicidade a diferentes nematóides, em estudos anteriores (MAIA, 2000; MAIA, 2001; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002), pelo fato de se tratar de um fungo de crescimento muito lento, decidiu-se não incluí-lo em alguns dos testes a campo.

4.3. Crescimento Micelial e Esporulação de um Isolado de *Arthrobotrys musiformis* e um de *Arthrobotrys oligospora* em Diferentes Meios de Cultura e duas Temperaturas

A Tabela 2 contém os resultados das análises de variância dos dados relativos ao crescimento micelial de *A. musiformis* e *A. oligospora*, em diferentes meios de cultura e duas temperaturas (B.O.D. a 25 ± 1 °C e em temperatura ambiente do laboratório), para todas as avaliações individuais, durante 6 dias, assim como para a interação meio x temperatura.

No primeiro dia de avaliação, na interação meio x *A. musiformis*, a maior média do crescimento micelial foi para AA com 0,92 cm, apresentando diferença estatística

Tabela 2. Comparações de médias do crescimento micelial (cm) de um isolado de *Arthrobotrys musiformis* e um de *A. oligospora* em 20 meios de cultura e duas temperaturas (B.O.D. 25 ± 1 °C e temperatura ambiente) no escuro, avaliado diariamente, durante 6 dias. Jaboticabal – SP/2004.

MEIO (M)	1º DIA			2º DIA			3º DIA		
	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	
	AA	0,92 a	0,26 bc	2,10 cdef	2,10 cdef	2,08 bcde	3,51 cd	3,51 cd	4,09 bcdef
AAZ	0,24 bcd	0,37 ab	1,78 efg	1,78 efg	2,25 bc	2,79 ef	2,79 ef	4,63 ab	
AFF	0,69 abc	0,12 bc	2,78 ab	2,78 ab	2,17 bcd	4,42 ab	4,42 ab	4,37 bcd	
AFG	0,28 bcd	0,00 c	2,49 abcd	2,49 abcd	1,88 defg	4,06 abc	4,06 abc	4,30 bcde	
AM	0,00 d	0,06 bc	2,34 abode	2,34 abode	1,95 cdefg	3,91 bcd	3,91 bcd	4,19 bcdef	
AMA	0,39 abcd	0,06 bc	1,11 h	1,11 h	1,41 hi	1,79 h	1,79 h	2,94 g	
AZG	0,46 abcd	0,63 a	1,58 fgh	1,58 fgh	2,63 a	2,70 efg	2,70 efg	5,18 a	
AZT	0,42 abcd	0,29 bc	1,37 gh	1,37 gh	2,32 ab	2,07 gh	2,07 gh	4,70 ab	
BDA	0,50 abcd	0,00 c	2,40 abcd	2,40 abcd	1,70 fgh	3,97 abcd	3,97 abcd	3,52 fg	
BDA + L	0,06 d	0,00 c	1,17 h	1,17 h	0,75	2,40 fgh	2,40 fgh	1,59 h	
CMA	0,40 abcd	0,12 bc	2,05 def	2,05 def	1,90 cdefg	3,59 cd	3,59 cd	3,55 efg	
FA	0,48 abcd	0,23 bc	2,82 a	2,82 a	2,03 bcdef	4,10 abc	4,10 abc	4,11 bcdef	
FM	0,34 abcd	0,19 bc	2,40 abcd	2,40 abcd	1,96 cdefg	4,39 ab	4,39 ab	4,02 bcdef	
FMI	0,23 bcd	0,00 c	2,24 bcde	2,24 bcde	1,30 i	4,06 abc	4,06 abc	2,94 g	
FR	0,31 abcd	0,00 c	1,26 gh	1,26 gh	1,63 ghi	2,01 gh	2,01 gh	3,73 def	
FT	0,46 abcd	0,25 bc	2,40 abcd	2,40 abcd	2,14 bcd	4,12 abc	4,12 abc	4,42 abcd	
FU	0,16 cd	0,06 bc	1,95 def	1,95 def	1,78 efg	3,34 de	3,34 de	3,86 cdef	
PA	0,12 cd	0,00 c	1,35 gh	1,35 gh	0,59	2,22 fgh	2,22 fgh	1,09 h	
PD	0,54 abcd	0,00 c	2,65 abc	2,65 abc	1,70 fgh	4,63 a	4,63 a	3,80 cdef	
TK	0,83 ab	0,30 bc	2,81 a	2,81 a	1,62 ghi	4,50 ab	4,50 ab	4,55 abc	
Teste F	3,71 **	7,61 **	26,75 **	26,75 **	53,47 **	45,92 **	45,92 **	45,79 **	
dims (Tukey, 5%)	0,6299	0,3105	0,5670	0,5670	0,3453	0,7075	0,7075	0,7563	
FUNGO (F)									
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	0,39 a				2,05 a			3,43 b	
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	0,14 b				1,79 b			3,78 a	
Teste F	64,16 **				82,33 **			59,35 **	
dims (Tukey, 5%)	0,0606				0,0573			0,0894	
TEMPERATURA (T)									
AMBIENTE									
B.O.D.	0,43 a	0,23 a	2,20 a	2,20 a	1,92 a	3,74 a	3,74 a	4,04 a	
	0,35 a	0,06 b	1,90 b	1,90 b	1,62 b	3,12 b	3,12 b	3,51 b	
Teste F	1,82 NS	41,28 **	37,71 **	37,71 **	127,45 **	100,58 **	100,58 **	63,92 **	
dims (Tukey, 5%)	0,1091	0,0538	0,0983	0,0983	0,0598	0,1226	0,1226	0,131	
INTERAÇÃO									
Teste F (M X T)	0,75 NS	3,88 **	2,38 **	2,38 **	1,88 *	5,32 **	5,32 **	1,36 NS	
CV (%)	99,11	130,57	17,11	17,11	11,95	12,78	12,78	12,40	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; NS (não significativo).

CONTINUAÇÃO.... Tabela 2. Comparações de médias do crescimento micelial (cm) de um isolado de *Arthrobotrys musiformis* e um de *A. oligospora* em 20 meios de cultura e duas temperaturas (B.O.D. 25 °C ± 1 °C e temperatura ambiente) no escuro, avaliado diariamente, durante 6 dias. Jaboticabal – SP/2004.

MEIO (M)	CRESCIMENTO MICELIAL					
	4º DIA		5º DIA		6º DIA	
	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>
AA	4,98 b	5,90 cdefg	6,31 bcd	7,62 cdefg	7,96 ab	8,45 a
AAZ	3,39 cd	6,63 ab	3,80 fg	8,50 a	4,18 f	8,50 a
AFF	5,58 ab	6,07 bcdef	6,63 abcd	7,88 abcde	7,99 ab	8,50 a
AFG	5,17 b	5,51 efghi	6,15 cd	7,44 defghi	6,82 c	8,43 a
AM	5,38 b	6,14 bcd	6,95 abc	7,82 bcdef	7,96 ab	8,50 a
AMA	2,25 f	3,81 j	2,59 h	5,16 j	3,19 g	5,92 c
AZG	3,20 cde	7,08 a	4,10 efg	8,38 ab	4,71 def	8,50 a
AZT	3,15 cde	6,47 bc	3,83 fg	8,05 abcd	4,90 def	8,50 a
BDA	5,51 ab	5,13 hi	6,64 abcd	6,88 i	7,91 ab	8,29 a
BDA + L	3,75 c	2,48 k	4,61 ef	3,58 k	5,37 de	4,57 d
CMA	5,31 b	5,13 i	6,65 abcd	7,10 ghi	8,15 a	8,40 a
FA	5,43 b	5,72 defgh	6,34 bcd	7,33 efghi	7,21 bc	8,44 a
FM	5,83 ab	6,10 bcde	7,25 a	8,12 abc	8,50 a	8,50 a
FMI	5,36 b	4,34 j	6,67 abcd	5,54 j	7,87 ab	6,89 b
FR	2,49 ef	5,65 defghi	3,38 gh	7,56 cdefgh	4,65 ef	8,50 a
FT	5,06 b	6,20 bcd	5,98 d	7,84 bcdef	7,84 ab	8,50 a
FU	3,96 c	5,48 fghi	4,82 e	7,20 fghi	5,53 d	8,30 a
PA	2,56 def	1,40 l	3,53 g	1,70 l	4,42 f	2,18 e
PD	6,29 a	5,41 ghi	7,43 a	6,95 hi	8,35 a	8,16 a
TK	5,28 b	5,80 defg	7,18 ab	7,20 fghi	7,77 ab	8,27 a
Teste F dms (Tukey, 5%)	56,94 ** 0,8521	141,47 ** 0,5931	76,77 ** 0,892	176,85 ** 0,6517	114,46 ** 0,8217	379,62 ** 0,4351
FUNGO (F)						
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	4,49 b		5,54 b		6,56 b	
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	5,32 a		6,89 a		7,71 a	
Teste F dms (Tukey, 5%)	328,60 ** 0,0896		776,03 ** 0,0953		794,62 ** 0,0802	
TEMPERATURA (T)						
AMBIENTE	4,87 a 4,12 b	5,61 a 5,03 b	6,05 a 5,03 b	7,15 a 6,63 b	7,01 a 6,11 b	7,79 a 7,63 b
B.O.D.						
Teste F dms (Tukey, 5%)	98,63 ** 0,1476	124,45 ** 0,1028	171,36 ** 0,1546	83,20 ** 0,1129	156,38 ** 0,1424	16,27 ** 0,0754
INTERAÇÃO						
Teste F (M X T) CV (%)	7,31 ** 11,74	3,18 ** 6,90	7,36 ** 9,97	3,25 ** 5,86	13,92 ** 7,76	6,97 ** 3,49

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; NS (não significativo).

significativa pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade de outros meios, à exceção de TK, AZT, AFF, PD, BDA, FA, AZG, FT, CMA, AMA, FM e FR. Com *A. oligospora*, a maior média foi obtida com o meio de AZG com 0,63 cm, diferindo estatisticamente dos demais meios, exceto para AAZ. Para a interação meio x fungo, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que *A. musiformis* apresentou maior média, com 0,39 cm.

Quanto à interação temperatura x *A. musiformis*, não houve diferença estatística significativa. Para *A. oligospora*, houve diferença estatística a 1% de probabilidade, com maior média de 0,23 cm para temperatura ambiente. Na interação meio x temperatura x fungo, não houve diferença estatística significativa para *A. musiformis*, mas houve para *A. oligospora* a 1 % de probabilidade (Tabela 2).

Para o segundo dia de avaliação, a interação meio x *A. musiformis* e *A. oligospora* apresentou diferença estatística significativa a 1% de probabilidade para a média do crescimento micelial de ambos, sendo que a maior média para *A. musiformis* foi para FA, com 2,82 cm, não diferindo apenas de AFF, AFG, AM, BDA, FM, FT, PD e TK. Com *A. oligospora*, a melhor média foi de 2,63 cm para AZG, não diferindo dos demais, exceto de AZT. Na interação meio x fungo, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com a maior média de 2,05 cm para *A. musiformis*. Na interação temperatura x *A. musiformis* e *A. oligospora*, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com maiores médias de 2,20 e 1,92 cm, respectivamente, em temperatura ambiente. Para a interação meio x temperatura x fungo, houve diferença estatística significativa, sendo a 1% para *A. musiformis* e a 5% para *A. oligospora* (Tabela 2).

No terceiro dia de avaliação, na interação meio x *A. musiformis* x *A. oligospora*, ocorreu, para ambos, diferença estatística significativa a 1% de probabilidade para a média do crescimento micelial, sendo a maior média de 4,63 cm com PD para *A. musiformis*, não diferindo apenas de AFF, AFG, BDA, FA, FM, FMI, FT e TK. A maior média para *A. oligospora* foi de 5,18 cm, não diferindo apenas de AAZ, AZT, FT e TK.

Com a interação meio x fungo, ocorreu diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, onde a maior média foi de 3,78 cm para *A. oligospora*. Para a interação temperatura x *A. musiformis* e *A. oligospora*, ocorreu diferença estatística significativa para ambos, sendo que as maiores médias foram em temperatura ambiente com 3,74 e 4,04 cm, respectivamente. Na interação meio x temperatura x fungo, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade para *A. musiformis*, mas não houve para *A. oligospora* (Tabela 2).

Para o quarto dia de avaliação, a interação meio x *A. musiformis* e *A. oligospora*, apresentou, para ambos, diferença estatística significativa a 1% de probabilidade para a média do crescimento micelial, sendo que, para *A. musiformis*, a maior média com 6,29 cm, foi obtida em PD, não diferindo apenas de AFF, BDA e FM. Para *A. oligospora*, a maior média, com 7,08 cm, foi obtida em AZG, não diferindo apenas de AAZ. Na interação meio x fungo, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com a maior média, de 5,32 cm, para *A. oligospora*. Para a interação temperatura x *A. musiformis* e *A. oligospora*, ambos apresentaram diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo as maiores médias, de 4,87 e 5,61 cm, respectivamente, para a temperatura ambiente. Com a interação meio x temperatura x fungo, ocorreram diferenças estatísticas significativas para ambos, a 1% de probabilidade (Tabela 2).

No quinto dia de avaliação, para a interação meio x *A. musiformis* e *A. oligospora*, ocorreu, para ambos, diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo a maior média em PD com 7,43 cm, não diferindo apenas de AFF, AM, BDA, CMA, FM, FMI e TK. Com *A. oligospora*, a maior média foi obtida em AAZ, com 8,50 cm, não diferindo apenas de AFF, AZG, AZT e FM. A interação meio x fungo, apresentou diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com a maior média, de 6,89 cm, para *A. oligospora*. Na interação temperatura x *A. musiformis* e *A. oligospora*, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, para ambos, com as maiores médias, de 6,05 e 7,15 cm, respectivamente, para a temperatura

ambiente. Para a interação meio x temperatura x fungo, houve diferença estatística significativa para ambos os fungos a 1% de probabilidade (Tabela 2).

No último dia de avaliação, a interação meio x *A. musiformis* e *A. oligospora* apresentou diferença estatística significativa para ambos os fungos a 1% de probabilidade, sendo que *A. musiformis* teve a maior média com FM, não diferindo estatisticamente de AA, AFF, AM, BDA, CMA, FMI, FT, PD e TK. Enquanto para *A. oligospora*, a maior média foi de 8,50 cm para AAZ, AFF, AM, AZG, AZT, FM, FR e FT, não diferindo estatisticamente de AA, AFG, BDA, CMA, FA, FU, PD e TK. Na interação meio x fungo, ocorreu diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo a maior média para *A. oligospora*, com 7,71 cm. A interação temperatura x *A. musiformis* e *A. oligospora* apresentou diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, para ambos, sendo as maiores médias de 7,01 e 7,79 cm, respectivamente, para a temperatura ambiente. Com a interação meio x temperatura x fungo, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade para ambos os fungos (Tabela 2).

Na Tabela 3, estão as análises de variância das médias da esporulação de um isolado de *A. musiformis* e um de *A. oligospora*, em duas temperaturas (B.O.D. a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e temperatura ambiente), no escuro, em 20 meios de cultura, após seis dias de incubação.

A interação meio x *A. musiformis* e *A. oligospora* revelou diferença estatística significativa a 1% de probabilidade para ambos, sendo a maior média para *A. musiformis* com 101.000 conídios/placa em FR, não diferindo estatisticamente de AFF, AFG, AM, AZT, BDA, FA, FM, FMI e TK. Os fungos não esporularam nos meios AAZ, AMA e PA. Com *A. oligospora*, a maior média foi de 570.800 conídios/placa em CMA, diferindo dos demais meios, sendo que em PA não houve esporulação. Para a interação meio x fungo, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que, enquanto a média de *A. musiformis* foi de 24.700 conídios /placa, para *A. oligospora* foi de 64.547 conídios/placa. A interação meio x *A. musiformis* e *A. oligospora* apresentou diferença estatística significativa para ambos, onde ocorreu

Tabela 3. Comparações de médias da esporulação de um isolado de *Arthrobotrys musiformis* e um de *A. oligospora* em 20 meios de cultura e duas temperaturas (B.O.D. $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e temperatura ambiente) no escuro, após seis dias de crescimento micelial. Jaboticabal – SP/2004.

		FUNGO (F)	
MEIO (M)	<i>Arthrobotrys musiformis</i> ¹	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	
AA	009650 cd	006900 c	
AAZ	000000 f	041650 bc	
AFF	031950 abc	046550 bc	
AFG	053750 ab	039000 bc	
AM	031900 abc	037635 bc	
AMA	000000 f	006100 c	
AZG	004200 e	049600 bc	
AZT	026700 abc	076850 bc	
BDA	042650 ab	050700 bc	
BDA + L	002200 d	038450 bc	
CMA	004150 d	570800 a	
FA	036350 abcd	042200 bc	
FM	014550 abc	032550 bc	
FMI	027150 ab	052550 bc	
FR	101000 a	108600 b	
FT	009450 bc	038350 bc	
FU	008300 e	036300 bc	
PA	000000 f	000000 c	
PD	006100 cd	001850 c	
TK	083950 a	014300 bc	
Teste F	122,19 **	40,65 **	
dms (Tukey 5%)	0,7474	97434	
FUNGO (F)			
<i>Arthrobotrys musiformis</i>		24700 b	
<i>Arthrobotrys oligospora</i>		64547 a	
Teste F		431,23 **	
dms (Tukey 5%)		0,0847	
TEMPERATURA (T)			
AMBIENTE	27020 a	52816 b	
B.O.D.	22380 b	76278 a	
Teste F	38,22 **	7,53 **	
dms (Tukey 5%)	0,1295	16882	
INTERAÇÃO			
Teste F (M X T)	20,47 **	2,14 **	
CV (%)	14,19	93,64	

¹ Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\log(x+1)$.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade.

maior esporulação média à temperatura ambiente para *A. musiformis*, diferentemente de *A. oligospora*, que foi maior em B.O.D. 25 ± 1 °C. Para a interação meio x temperatura x fungo ocorreram diferenças estatísticas significativas a 1% de probabilidade, para ambos os fungos (Tabela 3).

No presente estudo, os meios que se destacaram quanto ao crescimento micelial acima de 7 cm até o último dia de avaliação para *A. musiformis*, em ordem decrescente, foram: FM, PD, CMA, AFF, AA, AM, BDA, FMI, FT e TK. Para *A. oligospora*, acima de 8 cm, foram: AAZ, AFF, AM, AZG, AZT, FM, FR, FT, AA, FA, AFG, CMA, FU, BDA, TK e PD. Em relação à esporulação dos fungos, os meios que se destacaram quanto à produção do maior número de conídios para *A. musiformis*, acima de 14.000 conídios/placa, em ordem decrescente, foram: FR, TK, AFG, BDA, FA, AFF, AM, FMI, AZT e FM. Para *A. oligospora*, acima de 32.000 conídios/placa, foram: CMA, FR, AZT, FMI, BDA, AZG, AFF, FA, AAZ, AFG, BDA+L, FT, AM, FU e FM. Resultados semelhantes foram obtidos em um estudo, avaliando o crescimento micelial e a esporulação, em diferentes meios, e entre os meios avaliados estavam BDA, Fubá e CMA para espécies de *Arthrobotrys*, uma das quais era *A. musiformis* (DIAS & FERRAZ, 1993). Em estudo realizado por BERNARDO (2002), utilizando quatro espécies de fungos nematófagos, entre os quais estavam um isolado de *A. musiformis* e um de *A. oligospora*, avaliando o crescimento micelial e a esporulação em dois meios (BDA e CMA), os fungos apresentaram crescimento micelial semelhante nos meios. Quanto à esporulação, *A. oligospora* esporulou nos dois meios, e *A. musiformis* só esporulou em BDA, diferindo dos resultados obtidos no presente estudo para o isolado de *A. musiformis* utilizado, que esporulou em ambos os meios.

Em geral, os meios que se destacaram para o crescimento micelial e esporulação de *A. musiformis*, também foram os melhores para *A. oligospora*. Entretanto, alguns que se destacaram para *A. oligospora*, não foram tão eficazes para *A. musiformis*. Conquanto os meios que se destacaram para as duas espécies estudadas tenham sido os mais eficazes tanto para o crescimento micelial quanto para

a esporulação, o que favoreceu mais o crescimento de *A. musiformis*, foi FM, enquanto FR foi o que favoreceu mais a esporulação desse fungo. No caso de *A. oligospora*, o meio que proporcionou maior crescimento micelial foi AAZ, e a melhor esporulação foi obtida em CMA, embora esse meio tenha proporcionado o menor crescimento do fungo. Por conseguinte, os dados obtidos confirmam que o crescimento micelial e a esporulação dos fungos nematóides são fenômenos independentes. Os meios favoráveis a um deles podem não ser favoráveis ao outro. A escolha do meio, para certo fungo, portanto, deve levar em conta o que se pretende obter ao final: se massa micelial ou esporulação.

Quanto às duas temperaturas utilizadas, a que proporcionou a maior média no crescimento micelial, em todos os períodos avaliados, foi a temperatura ambiente, para as duas espécies de fungos estudadas. A esporulação média para *A. musiformis*, no entanto, foi maior à temperatura ambiente, enquanto a esporulação de *A. oligospora* foi maior em B.O.D. (25 ± 1 °C).

Os resultados evidenciaram que, apesar de as duas espécies de fungos estudados pertencerem ao mesmo gênero, produzem diferentes tipos de armadilha de captura, são oriundas de regiões diferentes e, por conseguinte, têm exigências ecológicas distintas. DIAS & FERRAZ (1993) também constataram que as exigências ecológicas variam entre as espécies de fungos de um mesmo gênero ou entre aquelas com o mesmo tipo de órgão de captura. Portanto, essas exigências têm de ser determinadas para cada espécie isolada (OLTHOF & ESTEY, 1965). Também, informações sobre o efeito de fatores ecológicos no crescimento e na atividade desses fungos podem ser usadas vantajosamente para melhorar sua eficiência no controle de nematóides (DUDDINGTON, 1955). O sucesso no estabelecimento de fungos nematófagos no solo depende de uma base alimentar que lhes garanta vantagens competitivas no contexto da biota do solo, segundo KERRY et al. (1984), citando PAPAIVIZAS & LEWIS (1981).

Os dados obtidos no presente estudo indicam que, para a produção em grandes quantidades do inóculo desses fungos, visando ao preparo de formulações, em grande escala, existem várias opções de meios de cultura que, em geral, são de custo mais baixo que os meios industrializados tradicionais, tais como BDA e CMA. Além disso, nas condições climáticas de Jaboticabal, não se faz necessária a utilização de câmaras especiais para o crescimento desses fungos, bastando apenas adaptações simples para proporcionar condições de escuro na sala destinada à incubação das culturas.

4.4. Potencial do Controle Biológico de *Meloidogyne javanica* Infectando Tomateiro em Vasos por Quatro Fungos Nematófagos em Casa de Vegetação

Os resultados das avaliações com base na média de cada uma das sete variáveis mencionadas no item 3.4. estão apresentados na Tabela 4. A análise estatística dos dados evidenciou diferença estatística significativa a 1 ou 5% de probabilidade para as variáveis avaliadas entre os diferentes tratamentos, com exceção do número de ovos nas raízes, que foi não-significativo, embora todos os tratamentos tenham exibido cerca de 50 % menos ovos que o tratamento-testemunha, evidenciando que ocorreu certo nível de controle do nematóide pelos fungos nematófagos. Quanto às variáveis número de galhas e número de massas de ovos, os quatro fungos testados diferiram estatisticamente da testemunha a 1% de probabilidade, sendo que o melhor tratamento foi com *M. robustum*, apresentando menores números de galhas e de massa de ovos nas raízes (180 e 30, respectivamente), conforme consta na Tabela 4. Quanto ao número de juvenis no solo, apenas os tratamentos *D. leptospora* e *M. robustum* diferiram estatisticamente da testemunha, a 1% de probabilidade, e entre si, sendo o menor número 337 juvenis, obtido com *D. leptospora*. Entretanto, *M. robustum* não diferiu dos demais tratamentos. Para as demais variáveis, não houve diferenças estatísticas significativas favoráveis aos tratamentos em relação à testemunha.

Tabela 4. Comparação entre as médias de sete variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Meloidogyne javanica*, em tomateiro, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.

Tratamento	Massa de matéria fresca da parte aérea (g)		Massa de matéria seca da parte aérea (g)		Massa de matéria fresca de raízes (g)		N° de galhas nas raízes		N° de ovos nas raízes		N° de juvenis no solo (100 cm ³ de solo)
	133 a	33 a	31 a	33 a	43 a	780 a	117 a	96.240 a	2.519 a		
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	142 a	31 a	25 b	262 b	32 b	51.720 a	1.463 ab				
<i>Dactylella leptospora</i>	68 b	24 b	17 b	325 b	48 b	51.687 a	337 c				
<i>Monacrosporium robustum</i>	100 ab	28 ab	21 b	180 b	30 b	43.340 a	1.315 b				
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	132 a	31 ab	23 b	265 b	40 b	60.607 a	1.702 ab				
Teste F	4,37 **	3,83 *	6,01 **	7,88 **	8,40 **	1,87 NS	26,95 **				
dms (Tukey 5%)	0,296	0,1209	0,2329	0,3796	0,3539	0,4285	0,2569				
CV (%)	8,63	4,84	9,86	9,12	12,74	5,37	4,94				

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em log (x+1).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna de cada variável não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; NS (não significativo).

Inclusive, para a massa de matéria fresca de raízes, os tratamentos não diferiram entre si e foram menores que a testemunha.

A Tabela 5 contém a comparação entre as médias da percentagem de eficiência do tratamento em relação ao tratamento-testemunha, de acordo com Abbott (NAKANO et al., 1981), para algumas das variáveis. Nenhuma das variáveis avaliadas apresentou diferença estatística significativa, exceto a percentagem do número de juvenis no solo, que apresentou diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, para *D. leptospora*, com 87% de eficácia em relação aos demais tratamentos. *Monacrosporium robustum*, *A. oligospora* e *P. lilacinus* apresentaram eficácia de 48; 42 e 32%, respectivamente, embora apenas *M. robustum* tenha apresentado diferença estatística em relação à testemunha.

Embora não tenha ocorrido diferença estatística significativa entre os tratamentos para a percentagem de redução do número de galhas nas raízes, *M. robustum*, *A. oligospora*, *P. lilacinus* e *D. leptospora* apresentaram eficácia no tratamento, de 77; 66; 66 e 58%, respectivamente. Para a percentagem do número de massa de ovos nas raízes, também não houve diferença estatística significativa. Entretanto, *M. robustum*, *A. oligospora*, *P. lilacinus* e *D. leptospora* apresentaram 74; 73; 66 e 59% de controle, respectivamente. Quanto à percentagem do número de ovos nas raízes, também não ocorreu diferença estatística significativa, embora *M. robustum*, *A. oligospora*, *D. leptospora* e *P. lilacinus* tenham demonstrado uma eficácia de 55; 46; 46 e 37% de controle, respectivamente (Tabela 5).

Os resultados das percentagens de eficácia dos tratamentos para os números de galhas nas raízes, massa de ovos nas raízes, ovos nas raízes e juvenis no solo, dos isolados de *M. robustum*, *A. oligospora*, *D. leptospora* e *P. lilacinus* utilizados para o controle de *M. javanica* em tomateiro, em vasos e em casa de vegetação, evidenciam o potencial que esses fungos apresentam para minimizar os danos provocados por esse nematóide à cultura.

Tabela 5. Comparação entre as médias da eficácia (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, de algumas das variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Meloidogyne javanica*, em tomateiro, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.

Tratamento	% N°		% N°		% N°	
	de galhas nas raízes	de massa de ovos nas raízes	de ovos nas raízes	de juvenis no solo	de ovos nas raízes	de juvenis no solo
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	66 a	73 a	46 a	42 b		
<i>Dactylella leptospora</i>	58 a	59 a	46 a	87 a		
<i>Monacrosporium robustum</i>	77 a	74 a	55 a	48 b		
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	66 a	66 a	37 a	32 b		
Teste F	1,05 ^{NS}	0,97 ^{NS}	0,30 ^{NS}	14,05 ^{**}		
dms (Tukey 5%)	29,60	28,27	53,19	25,14		
CV (%)	27,37	25,72	71,34	29,80		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna de cada variável não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} (não significativo).

4.5. Controle Biológico de *Meloidogyne javanica* em Alface em Vasos com Quatro Fungos Nematófagos

Os resultados das avaliações, com base na média de cada uma das variáveis mencionadas no item 3.5., estão apresentados na Tabela 6. A análise de variância dos dados evidenciou diferença estatística significativa a 1% de probabilidade entre os tratamentos pelo teste F. A comparação entre as médias dos tratamentos revelou que não houve diferença estatística significativa entre os diferentes tratamentos para o número de folhas por planta, massa de matéria fresca da parte aérea, massa de matéria fresca das raízes e número de ovos nas raízes, comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Apesar de não ter ocorrido diferença estatística significativa entre os tratamentos para o número de ovos nas raízes, todos os tratamentos apresentaram menor número que a testemunha, com destaque para o tratamento com *D. leptospora*, que apresentou cerca de 50% menos. Em relação ao número de galhas e de massa de ovos por sistema radicular, *D. leptospora* proporcionou o menor número de galhas, tendo sido o único tratamento que diferiu estatisticamente da testemunha a 1% de probabilidade, embora não tenha diferido dos demais tratamentos (Tabela 6). Quanto ao número de massa de ovos, esse tratamento proporcionou o menor número e diferiu de todos os demais, a 1% de probabilidade. Também para o número de juvenis no solo, ao final do experimento, esse fungo tinha reduzido o valor dessa variável ao menor nível (66 juvenis em 100 cm³ de solo), diferindo dos demais, a 1% de probabilidade, à exceção de *A. musiformis* (Tabela 6).

A comparação entre as médias da percentagem de eficiência do tratamento em relação ao tratamento-testemunha, de acordo com Abbott (NAKANO et al., 1981), para algumas das variáveis, está na Tabela 7. Considerando o conjunto das variáveis avaliadas, não houve diferença estatística significativa entre os fungos avaliados para a maior parte delas, exceto em relação à percentagem do número de massas de ovos nas raízes. De fato, a eficiência do tratamento com *D. leptospora* foi de 87%, diferindo a

Tabela 6. Comparação entre as médias de sete variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Meloidogyne javanica*, em alface, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.

Tratamento	Massa			Massa			N°		
	N° de folhas por planta	de matéria fresca da parte aérea (g)	de matéria fresca das raízes (g)	N° de galhas nas raízes	N° de ovos nas raízes	N° de ovos nas raízes	N° de juvenis no solo	(100 cm ³ de solo)	
Testemunha	12 a	48 a	4 a	178 a	45 a	38.960 a	319 a		
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	12 a	26 a	3 a	78 ab	24 a	33.744 a	146 ab		
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	13 a	38 a	2 a	70 ab	31 a	33.312 a	279 a		
<i>Dactylella leptospora</i>	9 a	35 a	3 a	42 b	6 b	20.360 a	66 b		
<i>Monacrosporium robustum</i>	15 a	39 a	4 a	98 ab	25 a	35.240 a	420 a		
Teste F	0,70 ^{NS}	1,89 ^{NS}	2,84 ^{NS}	21,21 ^{**}	30,36 ^{**}	88,02 ^{**}	52,81 ^{**}		
CV (%)	32,31	44,05	27,68	21,03	18,62	9,41	12,75		

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em log (x+1).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna de cada variável não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} (não significativo).

Tabela 7. Comparação entre as médias da eficácia (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, de algumas das variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Meloidogyne javanica*, em alface, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.

Tratamento	% N°		% N°		% N°	
	de galhas nas raízes	de ovos nas raízes	de ovos nas raízes	de ovos nas raízes	de ovos nas raízes	de juvenis no solo
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	56 a	46 b	13 a	13 a	54 a	
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	61 a	30 b	15 a	15 a	13 a	
<i>Dactylella leptospora</i>	76 a	87 a	48 a	48 a	79 a	
<i>Monacrosporium robustum</i>	45 a	44 b	10 a	10 a	- 32 a	
Teste F	1,60 ^{NS}	7,35 ^{**}	0,89 ^{NS}	0,89 ^{NS}	2,98 ^{NS}	
CV (%)	34,90	36,68	186,51	186,51	196,81	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna de cada variável não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade; ^{NS} (não significativo).

1% de probabilidade dos demais fungos. Para essa variável, a eficiência dos fungos *A. musiformis*, *M. robustum* e *A. oligospora* foi de 46; 44 e 30%, respectivamente, não diferindo entre si (Tabela 7).

Embora não tenha ocorrido diferença estatística significativa entre os tratamentos para a porcentagem do número de galhas nas raízes, *D. leptospora*, *A. oligospora*, *A. musiformis* e *M. robustum* apresentaram considerável eficácia, com níveis de controle de 76; 61; 56 e 45%, respectivamente. Para a porcentagem do número de ovos nas raízes, também não houve diferença estatística significativa. Entretanto, os níveis de eficácia desses tratamentos foram de 48; 15; 13 e 10%, respectivamente. Também não ocorreu diferença estatística significativa para porcentagem do número de juvenis no solo. Contudo, os níveis de eficácia dos fungos foram de 79; 54; 13 e – 32%, respectivamente (Tabela 7).

Os resultados das porcentagens de eficácia dos tratamentos para os números de galhas, massa de ovos, ovos nas raízes e juvenis no solo, dos isolados de *D. leptospora*, *A. oligospora*, *A. musiformis* e *M. robustum* utilizados para o controle de *M. javanica* em alface, em vasos e em casa de vegetação, salientam o potencial que esses fungos apresentam para minimizar os danos causados por esse nematóide à cultura, sendo que *D. leptospora* se destacou dos demais.

4.6. Utilização de Fungos Nematófagos no Controle de *Rotylenchulus reniformis* em Alface em Casa de Vegetação

Os resultados das avaliações, com base na média de cada uma das variáveis mencionadas no item 3.6., estão na Tabela 8. A análise de variância dos dados evidenciou diferença estatística significativa a 1 ou 5% de probabilidade, pelo teste F, para as variáveis avaliadas entre os diferentes tratamentos, com exceção do número de folhas por planta. Para a massa de matéria fresca da parte aérea, houve diferença estatística significativa a 5% de probabilidade, apenas entre os tratamentos

Tabela 8. Comparação entre as médias de cinco variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Rotylenchulus reniformis* associado à alfafa, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.

Tratamento	N°		Massa de		N°	
	de folhas por planta	da parte aérea (g)	matéria fresca das raízes (g)	de ovos nas raízes	de juvenis no solo (100 cm ³ de solo)	
Alfafa não inoculada	13 a	55 ab	4,6 ab	0 b	0 b	
Alfafa + Nematóide + Arroz						
Alfafa + Nematóide (Testemunha)	11 a	43 b	4,5 a	853 a	9 a	
	13 a	59 ab	4,0 ab	304 ab	17 a	
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	17 a	92 a	3,3 ab	433 a	23 a	
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	13 a	49 b	3,8 ab	1.060 a	7 ab	
<i>Dactylella leptospora</i>	14 a	60 ab	2,3 b	253 a	13 a	
<i>Monacrosporium robustum</i>	14 a	69 ab	2,8 ab	580 a	25 a	
Teste F	1,65 ^{NS}	2,63 *	2,92 *	7,58 **	3,09 *	
CV (%)	9,69	8,91	17,87	35,45	51,03	

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em log (x+1).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna de cada variável não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; ^{NS} (não significativo).

A. musiformis, com 92 g, comparado com *A. oligospora*, com 49 g, e alface inoculada com o nematóide, mais adição de quirera de arroz não inoculada com os fungos, com 43 g. Quanto à massa de matéria fresca das raízes, ocorreu diferença estatística significativa a 5% de probabilidade, somente entre alface inoculada com o nematóide, mais adição de quirera de arroz autoclavada e não colonizados pelos fungos, com 4,5 g, comparada com 2,3 g de massa de matéria fresca de raízes para o tratamento relativo a *D. leptospora*. Com relação ao número de ovos nas raízes, não ocorreu diferença estatística significativa entre os fungos. A diferença significativa a 1% de probabilidade, entre os tratamentos, detectada na análise de variância, foi decorrente do valor zero constatado no tratamento com alface não inoculada. Para o número de juvenis no solo, houve diferença estatística significativa a 5% de probabilidade entre os tratamentos, também em função do tratamento não inoculado. Os baixos números de juvenis no solo, observados nos demais tratamentos, provavelmente, foram decorrentes do fato de que havia abundante espaço vital nas raízes para abrigar os juvenis, fazendo com que eles se mantivessem nos tecidos das raízes em vez de migrarem para o solo (Tabela 8).

A comparação entre as médias da percentagem de controle obtida com os tratamentos, em relação à testemunha, de acordo com Abbott (NAKANO et al., 1981), para as variáveis avaliadas, está na Tabela 9. Embora não tenha ocorrido diferença estatística significativa entre os tratamentos para essas variáveis, a eficácia do tratamento para a percentagem do número de ovos nas raízes, com *D. leptospora*, *A. musiformis*, *M. robustum* e *A. oligospora*, foi de 70; 49; 32 e – 24%, respectivamente. Quanto à percentagem do número de juvenis no solo, a eficácia do tratamento com *A. oligospora*, *D. leptospora*, *A. musiformis* e *M. robustum* foi de 59; 22; - 37 e – 49%, respectivamente (Tabela 9).

Os resultados das percentagens de controle, com base nos números de ovos nas raízes, evidenciaram que *D. leptospora* se destacou dos demais com 70% de controle em relação à testemunha. Entretanto, esse fungo não é um parasito de ovos.

Tabela 9. Comparação entre as médias da eficácia (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, de algumas das variáveis empregadas no estudo da ação antagonista de quatro fungos nematófagos sobre *Rotylenchulus reniformis* associado à alfaca, em vasos, em casa de vegetação. Jaboticabal – SP.

Tratamento	% N° de ovos nas raízes	% N° de juvenis no solo
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	49 a	- 37 a
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	- 24 a	59 a
<i>Dactylella leptospora</i>	70 a	22 a
<i>Monacrosporium robustum</i>	32 a	- 49 a
Teste F	2,13 ^{NS}	1,29 ^{NS}
CV (%)	161,34	- 184,32

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna de cada variável não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

^{NS} (não significativo).

Por conseguinte, admite-se que sua atuação se deu sobre a população de juvenis, a partir da inoculação do nematóide. Com isso, menor número de juvenis teria se instalado nas raízes e, conseqüentemente, menor número de fêmeas teria alcançado a fase adulta e iniciado a oviposição, resultando em menor número de ovos nas raízes, ao final do experimento. Para a percentagem de controle com base no número de juvenis no substrato, os dados evidenciaram que a eficiência do tratamento com *A. oligospora* foi superior aos demais, embora tenha sido de apenas 59%. Esses dados, no entanto, corroboram a hipótese de que os fungos nematófagos podem ser uma alternativa de controle dos nematóides em alface.

4.7. Avaliação Preliminar da Eficácia do Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* em Pimentão com Fungos Nematófitos em Ambiente Protegido (I)

Uma amostra da população do nematóide, coletada na estufa onde o experimento foi instalado, no Município de Pirajuí – SP, foi previamente processada no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, tendo sido identificada como pertencente a *M. incognita*, conforme os caracteres morfológicos e bioquímico marcantes, para identificação da espécie, obtidos conforme descrito no item 3.7. e ilustrados na Figura 25.

Antes da primeira amostragem de solo e raízes de pimentão, cerca de 30 dias após o transplante das mudas, a área foi inspecionada. Na Figura 26 A, estão ilustradas plantas coletadas na parcela não tratada (testemunha), apresentando menor desenvolvimento, menor número de folhas, início de amarelecimento das folhas, além do sistema radicular exibindo sintomas de alta infecção, representada pelo grande número de galhas. Na 26 B, são ilustradas plantas coletadas na parcela tratada com os fungos, exibindo melhor desenvolvimento, maior número de folhas e o sistema radicular livre de galhas. Em 26 C, ilustrou-se o sistema radicular ampliado de uma planta não

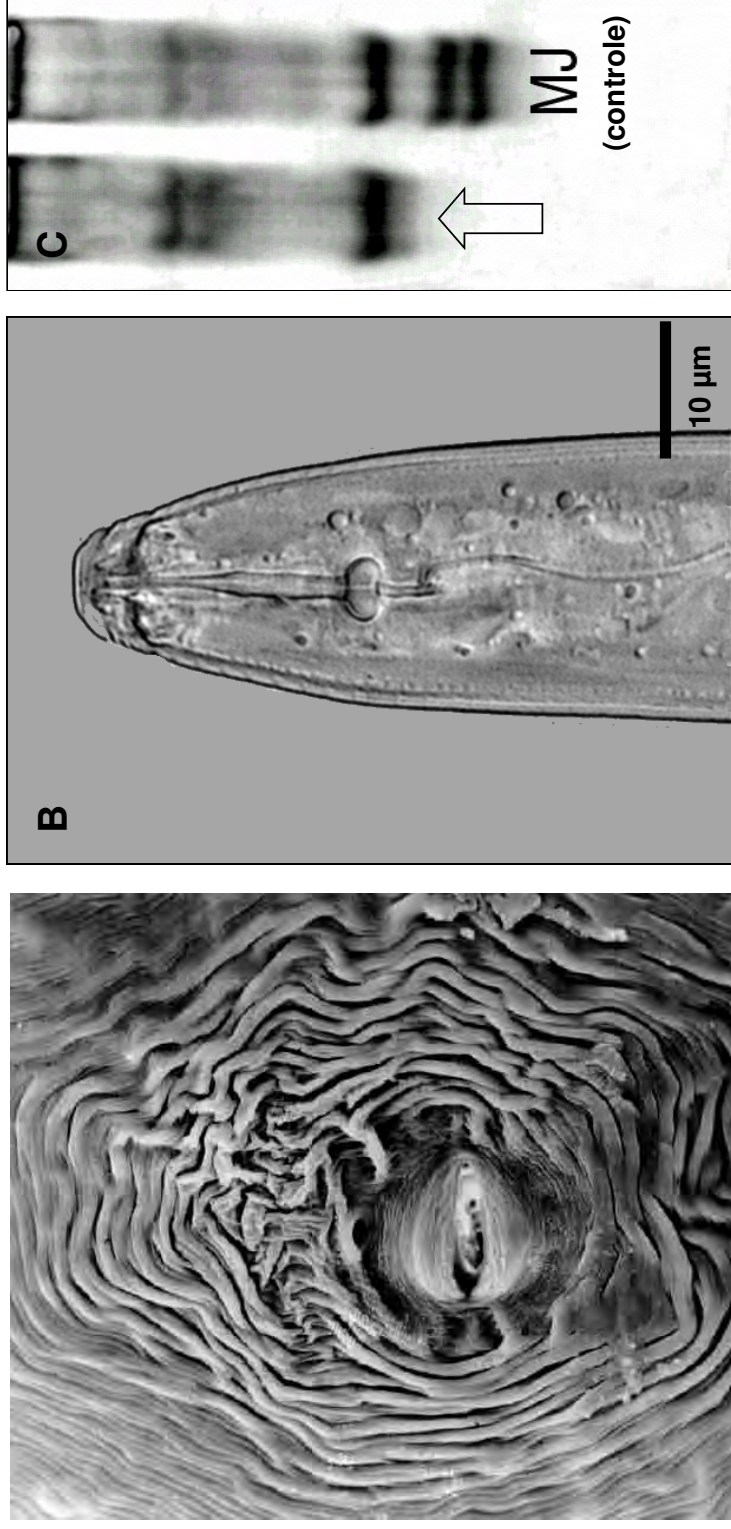


Figura 25. Subpopulação de *Meloidogyne incognita* recuperada em parcelas de estufa utilizada para o estudo do controle biológico do nematóide com fungos nematófagos. A) Eletromicrografia de varredura do padrão perineal. B) Fotomicrografia da região labial do macho. C) Fenótipo isoenzimático para esterase com uma banda típica da espécie (seta). MJ = *Meloidogyne javanica* utilizada como controle.



Figura 26. Plantas de pimentão em estufa, coletadas 30 dias após o transplante das mudas em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita* e tratadas e não tratadas com os fungos nematófagos. A) Planta coletada em parcela não tratada com os fungos (Testemunha), aparentando comprometimento em seu desenvolvimento. B) Planta coletada em parcela tratada com os fungos, apresentando melhor vigor e desenvolvimento. C) Sistema radicular da planta da parcela não tratada (NT) e sistema radicular da planta da parcela tratada (T).

tratada (NT) exibindo numerosas galhas formadas pelo nematóide e o de uma planta tratada com os fungos (T), livre de galhas.

Na Figura 27 A, são ilustradas plantas coletadas nas parcelas sem tratamento com os fungos (testemunha), aos 60 dias após o transplante, as quais apresentaram desenvolvimento retardado, tanto na parte aérea como no sistema radicular, além de elevado número de galhas e plantas da parcela tratada (27 B) exibindo melhor desenvolvimento e ausência de galhas nas raízes. Em 27 C, estão ilustrados os sistemas radiculares de plantas das parcelas tratadas e não-tratadas. Na Figura 28, está ilustrada uma vista geral do experimento, onde se vê a diferença no desenvolvimento entre as plantas das parcelas tratadas (setas) e das não-tratadas.

As médias da população de *M. incognita*, aos 60 dias após o transplante das mudas, foram estimadas em 225 juvenis de segundo estágio/100 cm³ de solo e 1.957 juvenis de segundo estágio e ovos/10 g de raízes, nas parcelas tratadas. Nas parcelas não-tratadas, foram de 642 juvenis/100 cm³ de solo e 9.982 ovos e juvenis de segundo estágio por 10 g de raízes. Após 120 dias, os valores dessas variáveis foram de 142 juvenis/100 cm³ de solo e 1.713 ovos e juvenis/10 g de raízes, nas parcelas tratadas e 78 juvenis em 100 cm³ de solo e 4.340 juvenis e ovos nas raízes nas não-tratadas. Aos 180 dias, foram de 9.262 juvenis por 100 cm³ de solo e 15.812 ovos e juvenis em 10 g de raízes nas parcelas tratadas. Nas parcelas não-tratadas, foram estimados em 17.700 juvenis em 100 cm³ das amostras de solo e 34.220 ovos e juvenis, nas amostras de raízes (Figuras 29 e 30). Em que pese essas diferenças nos valores das médias dessas variáveis, a análise estatística dos dados não evidenciou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 10).

A aplicação do teste de Abbott, de acordo com NAKANO et al. (1981), revelou que aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos fungos, as percentagens de controle de *M. incognita* no solo foram de 65; -83 e 48% e, nas raízes, foram de 80; 61 e 54%, respectivamente (Tabela 11). Essas variações são atribuídas, principalmente, à irregularidade na distribuição do nematóide no solo e refletiram, também, na análise dos



Figura 27. Plantas de pimentão em estufa, coletadas 60 dias após o transplante em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita* e tratadas e não tratadas com os fungos nematófagos. A) Plantas de pimentão coletadas em parcela não tratada com os fungos (testemunha), exibindo menor desenvolvimento da parte aérea e do caule. B) Plantas coletadas em parcela tratada com os fungos, apresentando maior altura e espessura do caule. C) Sistemas radiculares de planta coletada em canteiro não tratado (NT) e de uma planta coletada no canteiro tratado (T).



Figura 28. Vista geral de experimento em estufa, aos 60 dias após o transplântio das mudas de pimentão em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita* e tratadas e não tratadas com fungos nematófagos, exibindo plantas apresentando desenvolvimento satisfatório (setas) nas parcelas tratadas com os fungos, enquanto, nas parcelas não tratadas (testemunha), o desenvolvimento das plantas foi comprometido pela ação do nematóide.

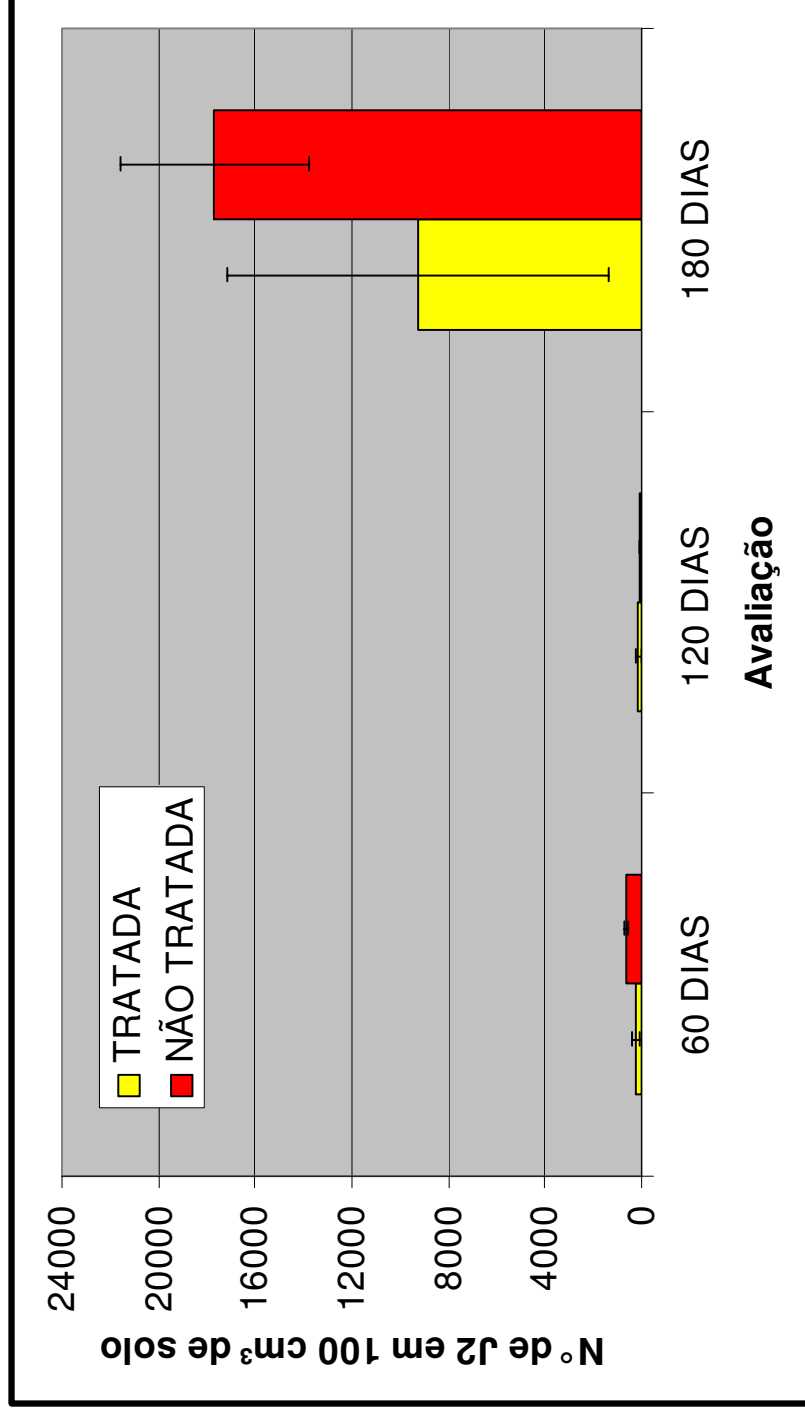


Figura 29. Médias da população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* em 100 cm³ das amostras de solo das parcelas tratadas e não tratadas com os fungos nematófagos, aos 60; 120 e 180 dias após o transplante de pimentão.

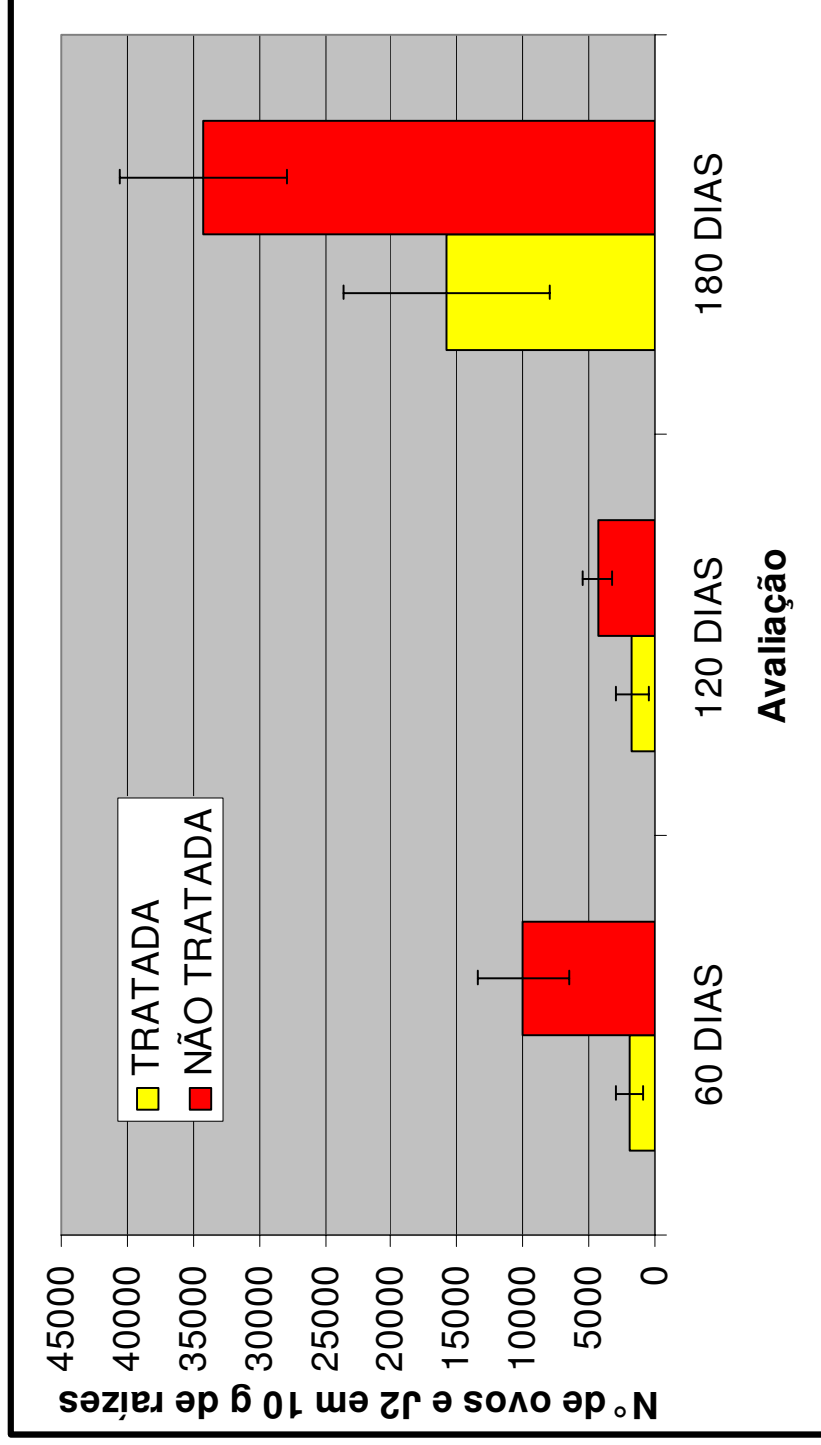


Figura 30. Média da população de ovos e juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* em 10 g de raízes de plantas de pimentão de parcelas tratadas e não tratadas com fungos nematófagos, aos 60; 120 e 180 dias após transplantio.

Tabela 10. Média no solo e nas raízes das estimativas dos números de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação da mistura de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção de pimentão cultivar Elisa, em estufa, no Município de Pirajuí – SP.

TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo		
	P60	P120	P180
TESTEMUNHA	642	78	17700
FUNGOS	225	142	9262
Teste F ¹	2,09 ^{NS}	0,20 ^{NS}	1,20 ^{NS}
dms	1,8178	3,1251	2,537
CV (%)	27,09	65,83	23,52
TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes		
	P60	P120	P180
TESTEMUNHA	9982	4340	34220
FUNGOS	1957	1713	15812
Teste F ¹	2,18 ^{NS}	2,27 ^{NS}	1,19 ^{NS}
dms	2,3235	1,3385	1,6967
CV (%)	24,06	14,21	13,97

P60, P120 e P180 = população do nematóide aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

^{NS} Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos.

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

Tabela 11. Médias da percentagem de controle de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias, após a aplicação da mistura de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em relação à Testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção de pimentão cultivar Elisa, em estufa, no Município de Pirajuí – SP.

TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo		
	P60	P120	P180
FUNGOS	65	- 83	48
CV (%)	72,56	- 300,51	161,76
TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes		
	P60	P120	P180
FUNGOS	80	61	54
CV (%)	22,82	82,00	73,56

P60, P120 e P180 = população do nematóide aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

dados relativos à produtividade, uma vez que não houve diferença estatística significativa entre as médias, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Tabela 12), embora a média das parcelas tratadas tenha sido de 0,6 caixa de 10 kg/m², enquanto nas parcelas não-tratadas foi de apenas 0,35 caixa (Figura 31), representando um ganho de quase 100% nas parcelas tratadas com os fungos nematófagos. Esses resultados mostram o potencial de utilização desses fungos no controle de *M. incognita* em pimentão.

Tabela 12. Média da produção de plantas de pimentão da cultivar Elisa, cultivadas em parcelas tratadas com a mistura de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiros de uma estufa de produção comercial, no Município de Pirajuí – SP.

TRATAMENTO	Produção em caixa de 10 kg
TESTEMUNHA	0,35 a
FUNGOS	0,60 a
Teste F ¹	4,42 ^{NS}
dms	0,1107
CV (%)	21,94

^{NS} Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos.

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

As amostras de solo coletadas no momento da aplicação dos fungos, aos 30; 60; 120 e 180 dias após o transplântio das mudas, foram plaqueadas conforme descrito no item 3.1. para a verificação da presença de fungos nematófagos no canteiro. Para as amostras de solo coletadas no dia da aplicação, não foi encontrado nenhum fungo nematófago nas parcelas destinadas ao tratamento e nas que não seriam tratadas.

Nas amostras coletadas aos 30 dias após o transplântio das mudas, houve abundante predação nas alíquotas plaqueadas. Os nematóides utilizados como iscas

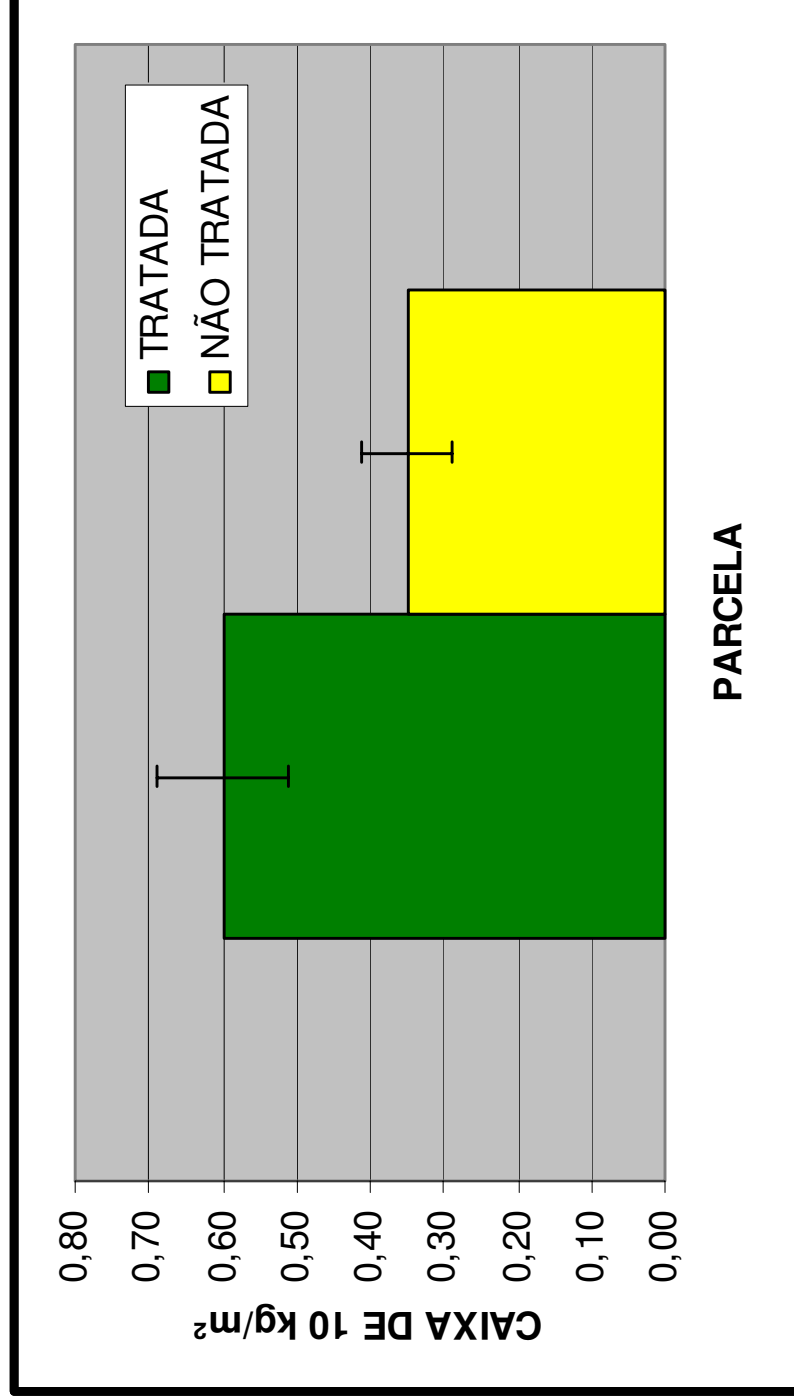


Figura 31. Produtividade média de pimentão, em caixa de 10 kg/m², nas parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita* e tratadas ou não com a mistura dos fungos nematófagos.

foram capturados e foram observadas as estruturas de captura e conídios dos fungos. Também, nessas placas, foi observada a presença de ácaros alimentando-se das hifas e conídios dos fungos. Nas parcelas sem tratamento com os fungos (testemunha), não havia presença de fungos nematófagos.

Para as amostras coletadas aos 60; 120 e 180 dias, não se detectou a presença dos fungos nematófagos. Talvez devido a ácaros antagonísticos, uma vez que, uma alta e incomum população de ácaros foi observada nas amostras.

4.8. Eficácia do Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* Utilizando *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* em Cultivo de Pimentão sob Estufa (II)

Como descrito no item anterior, a população de *M. incognita* foi previamente identificada em raízes de plantas coletadas na estufa utilizada para condução desse experimento. Nas Figuras 32 A e 32 B, estão ilustradas plantas aos 60 dias após o transplante, apresentando o desenvolvimento retardado da parte aérea nas parcelas sem tratamento com os fungos (testemunha) e nas tratadas com uma suspensão de conídios somente de *A. oligospora*, respectivamente, evidenciando a ação danosa da infecção das plantas pelo nematóide. Observou-se, também, que os sistemas radiculares das plantas estavam comprometidos, face ao elevado número de galhas presentes em ambos os tratamentos. Com efeito, quando os fungos são aplicados na forma de substrato colonizado, as estruturas de captura são formadas imediatamente, e estes iniciam sua atividade predatória, protegendo as raízes contra a penetração dos juvenis do nematóide. Por outro lado, a aplicação de suspensão de conídios demanda um período de tempo para estes germinarem e formarem o micélio sobre o qual iriam ser formadas as estruturas de captura, retardando o início da atuação dos fungos. Enquanto isso, os juvenis que penetrassem nas raízes, teriam escapado da ação dos fungos, uma vez que estes não colonizam os tecidos das raízes.

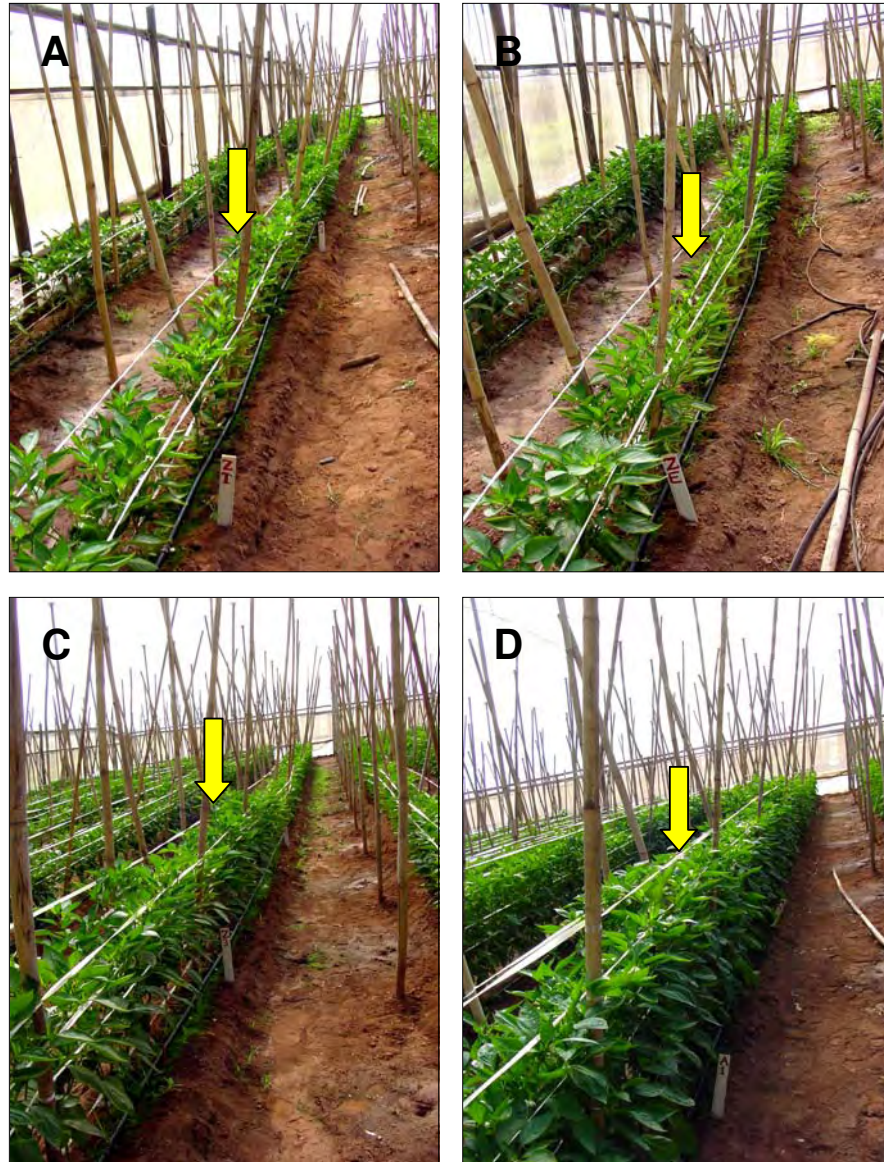


Figura 32. Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos e não tratadas, aos 60 dias após o transplante, em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita*. A e B) Plantas apresentando desenvolvimento retardado (setas) nas parcelas sem tratamento (Testemunha) e nas tratadas com a suspensão de conídios de *A. oligospora*, respectivamente. C e D) Plantas apresentando bom desenvolvimento (setas), em parcelas tratadas com 1 e 3 L da mistura de arroz colonizada por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, respectivamente.

Em 32 C e 32 D, estão documentadas plantas em parcelas tratadas com 1 e 3 L da mistura de arroz colonizado pelos fungos, exibindo melhor desenvolvimento da parte aérea.

Nas Figuras 33 e 34, estão ilustradas plantas aos 120 dias após o transplântio, denotando grande diferença entre os tratamentos utilizados. Em 33 A, percebe-se, visualmente, a diferença no desenvolvimento das plantas das parcelas tratadas com as doses de 2 e 4 L da formulação dos fungos, em relação à parcela tratada com apenas 1 L. Na Figura 33 B, também é nítida a diferença entre as plantas da parcela tratada com 3 L da mistura de partes iguais de substrato colonizado pelos fungos e as plantas da parcela sem tratamento (Testemunha), as quais exibiram menor crescimento que as da parcela tratada, inclusive com a suspensão de conídios. Em 34 A, estão ilustradas plantas apresentando maior desenvolvimento, na parcela tratada com 4 L, enquanto na parcela tratada com a suspensão de conídios as plantas estão com desenvolvimento retardado. Na 34 B, o resultado se repete, sendo que as plantas da parcela tratada com 3 L da mistura apresentavam melhor desenvolvimento, comparadas às da parcela sem tratamento (Testemunha).

Plantas de pimentão com 180 dias após o transplântio estão documentadas nas Figuras 35 e 36. A 35 A ilustra plantas apresentando desenvolvimento comprometido na parcela tratada com a suspensão de conídios de *A. oligospora*, enquanto na parcela tratada com 1 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado, por ambos os fungos, as plantas apresentaram bom desenvolvimento. Em 35 B, são observadas plantas bem desenvolvidas, com diferenças nítidas na altura, diretamente proporcional ao tratamento utilizado na parcela. De fato, houve uma relação direta entre a dose da mistura aplicada e o crescimento das plantas nas doses de 1, 2 e 4 L.

Na Figura 36, estão ilustradas plantas apresentando desenvolvimento totalmente comprometido na parcela sem tratamento (Testemunha). Contudo, na parcela tratada com 1 L da mistura do arroz colonizado pelos fungos nematófagos, as plantas apresentaram bom desenvolvimento (Figura 36 A). Em 36 B, são observados resultados

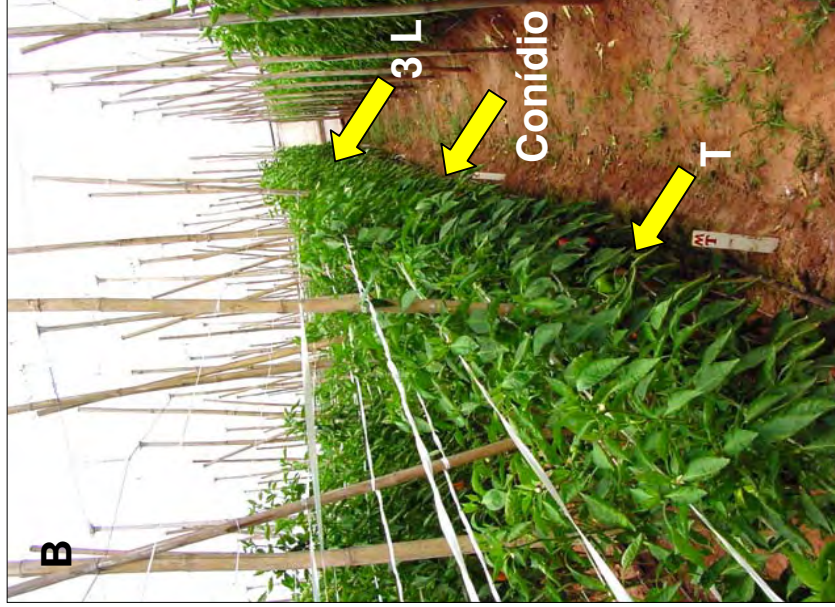


Figura 33. Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos, aos 120 dias após o transplantio, em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita*. A) Plantas apresentando maior desenvolvimento nas parcelas tratadas com as doses 2 e 4 L da mistura dos fungos nematófagos, em relação às plantas com desenvolvimento menor da parcela tratada com 1 L. B) Plantas da parcela sem tratamento (Testemunha = T) estavam cloróticas e menores que as plantas da parcela tratada com a suspensão de conídios de *A. oligospora*, enquanto as plantas das parcelas tratadas com a dose 3 L estavam muito maiores.

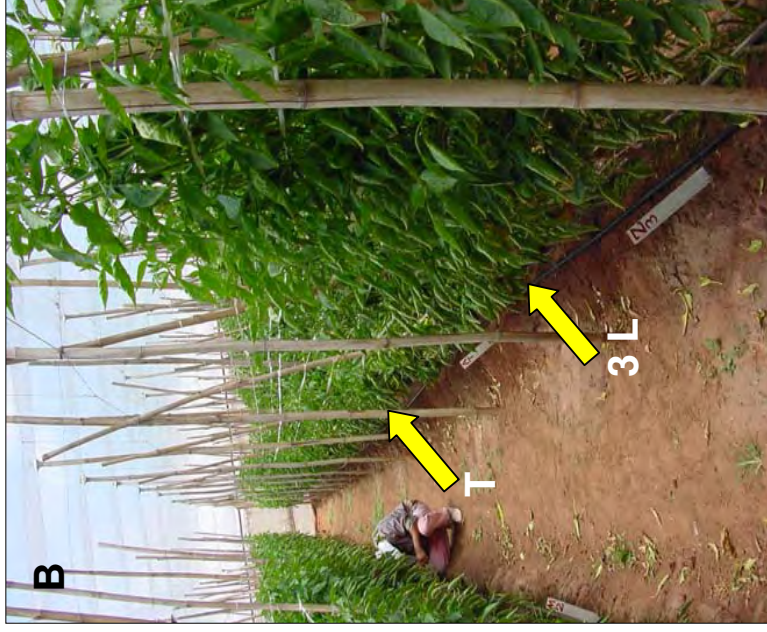
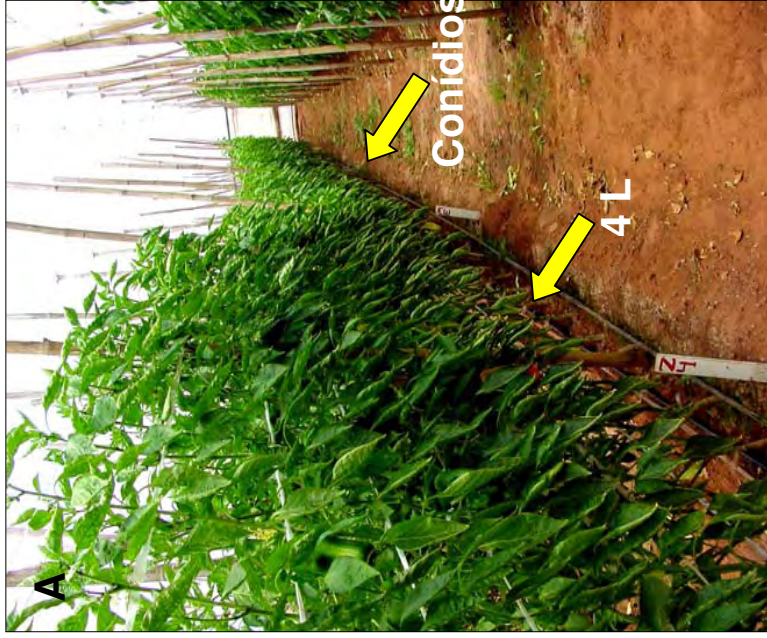


Figura 34. Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos, aos 120 dias após o transplantio, em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita*. A) Plantas apresentando maior desenvolvimento na parcela tratada com 4 L da mistura dos fungos nematófagos, em relação às plantas com desenvolvimento menor da parcela tratada com a suspensão de conídios de *A. oligospora*. B) Plantas da parcela tratada com 3 L, também exibindo melhor desenvolvimento que as plantas da parcela sem tratamento (T= testemunha).



Figura 35. Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas com fungos nematófagos, aos 180 dias após o transplante, em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita*. A) Plantas apresentando desenvolvimento comprometido na parcela tratada com a suspensão de conídios de *A. oligospora*, enquanto, na parcela tratada com 1 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado pelos fungos, as plantas apresentaram bom desenvolvimento. B) Diferenças nítidas foram observadas no desenvolvimento das plantas nas parcelas tratadas com as doses 4; 2 e 1 L, sendo que, na maior dose, as plantas curvaram-se pelo excesso de crescimento.

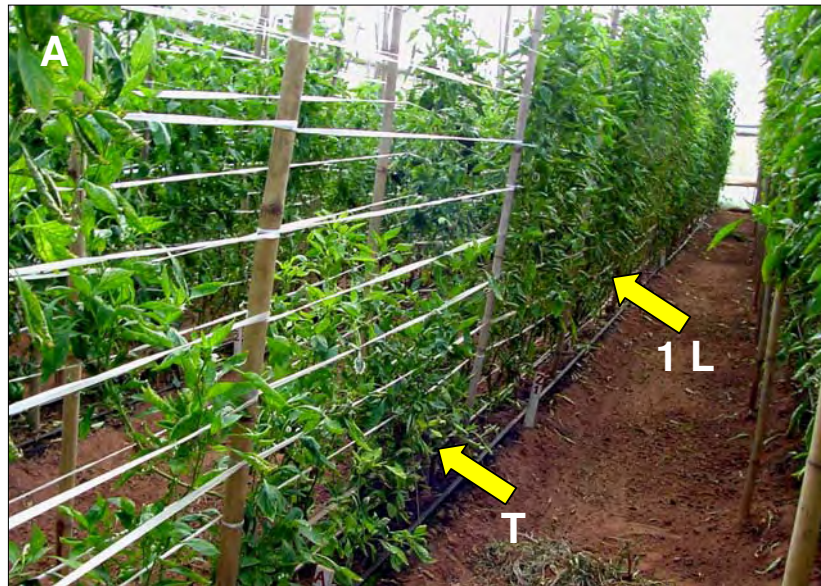


Figura 36. Plantas de pimentão em cultivo protegido, tratadas e não tratadas com fungos nematófagos, aos 180 dias após o transplante, em canteiros infestados por *Meloidogyne incognita*. A) Plantas apresentando desenvolvimento totalmente comprometido na parcela sem tratar (Testemunha), enquanto, na parcela tratada com 1 L da mistura do arroz colonizado pelos fungos nematófagos, as plantas apresentavam bom desenvolvimento. B) As plantas na parcela sem tratamento (Testemunha) estão pouco desenvolvidas, enquanto, na parcela tratada com 3 L, exibiam bom desenvolvimento.

semelhantes ao anterior, comparado-se com as plantas da parcela sem tratamento (Testemunha), as quais exibiam pouco desenvolvimento, enquanto, na parcela tratada com 3 L, as plantas mostravam-se bem desenvolvidas.

A análise de variância pelo teste de F e o teste de Tukey, a 5% de probabilidade das médias da população estimada de juvenis de segundo estágio *M. incognita* no solo, na amostragem prévia (zero), aos 60; 120 e 180 dias, para as cultivares Amanda, Margarita e Zarco, estão na Tabela 13.

Embora a análise dos dados tenha evidenciado que a população de juvenis do nematóide estava relativamente uniforme no solo, conforme indicado pela análise dos dados da amostragem prévia, salienta-se que o método de JENKINS (1964), utilizado para extração de nematóides do solo, não se aplica para avaliação quantitativa de ovos. Por conseguinte, em estufas onde a cultura anterior foi removida há pouco, grande quantidade de radículas, com elevado número de massas de ovos, permanecem no solo e não são detectadas pelo método de JENKINS (1964). Provavelmente, esse fato exerceu certa influência sobre os resultados obtidos.

Para a média da população de *M. incognita* no solo, aos 60 dias, comparando-se as três cultivares, houve diferença estatística significativa a 5% de probabilidade entre elas. A cultivar Zarco, com 122 juvenis de segundo estágio do nematóide por 100 cm³ de solo, diferiu das cultivares Amanda e Margarita, com 40 e 43, respectivamente, mas essas últimas cultivares não diferiram entre si (Tabela 13).

Mesmo assim, os tratamentos com 1; 3 e 4 L da mistura dos fungos apresentaram em torno de 52% menos nematóide que o tratamento-testemunha (sem fungo). No tratamento com suspensão de conídios, foi recuperado maior número de nematóides que a Testemunha (117 contra 92 juvenis/100 cm³ da amostra de solo).

Quanto à interação das cultivares com os tratamentos utilizados, não houve diferença estatística significativa. Aos 120 dias, houve diferença estatística significativa a 5% de probabilidade, entre a cultivar Zarco, com 312 juvenis de segundo estágio, e a Amanda, com 127, e essa não diferiu da cultivar Margarita, com 76 juvenis de *M. incognita*/100 cm³ das amostras de solo.

Para os tratamentos utilizados, não houve diferença estatística significativa entre eles. Contudo, 3; 2; 4 e 1 L da mistura dos fungos apresentaram número de juvenis/100 cm³ das amostras de solo equivalentes a 89; 44; 37 e 34% menos nematóide que o tratamento-testemunha. Embora não tenha havido diferença significativa entre eles, o tratamento com conídios de *A. oligospora* exibiu mais nematóides que a testemunha. Para a interação das cultivares e os tratamentos utilizados, também não ocorreu diferença estatística significativa.

Aos 180 dias, também não ocorreu diferença significativa entre as cultivares utilizadas. Contudo, o número de juvenis por 100 cm³ de solo recuperado nas parcelas com a cultivar Margarita foi de 302, para Amanda foi de 362 e para Zarco, 1.252. Esse fato sugere que a cultivar Zarco pode ser mais suscetível ao nematóide. Com efeito, na análise de alíquotas de 10 g de raízes, aos 60; 120 e 180 dias após o transplântio, essa tendência se manteve, uma vez que foram recuperados mais ovos e juvenis do nematóide em Zarco que nas outras duas cultivares (Tabela 13). Os tratamentos relativos a 3 e 4 L da mistura de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos, aos 60 dias após o transplântio, inibiram o aumento da população do nematóide nas raízes, em relação à testemunha, conforme os dados da avaliação de alíquotas de 10 g de raízes (Tabela 13). De fato, embora os tratamentos relativos à suspensão de conídios de *A. oligospora* e 1 L e 2 L da mistura do substrato colonizado pelos fungos não tenham diferido da testemunha, em relação a essa variável, os dados revelam a tendência para a redução da população do nematóide nas raízes, na fase inicial de desenvolvimento da cultura. Sendo a fase inicial de desenvolvimento das culturas a

mais vulnerável à ação dos nematóides, os dados evidenciam o benefício que pode ser obtido com a aplicação dos fungos, especialmente em culturas de ciclo mais curto.

Por outro lado, como *M. incognita* é um endoparasito sedentário, parte da população do nematóide escapa da ação dos fungos, após sua penetração nas raízes. Então, a população do nematóide tende a recompor-se e, até, a aumentar com o tempo. Os dados evidenciaram esse fato, já que não houve diferença significativa entre os tratamentos, em relação ao número de juvenis do nematóide nas raízes, nem aos 120 nem aos 180 dias após a aplicação dos fungos. Para as culturas de ciclo mais longo, por conseguinte, seria o caso de se refazer a aplicação dos fungos. Para a interação entre as cultivares e os tratamentos utilizados, não houve diferença estatística significativa (Tabela 13).

A análise de variância pelo teste F e a comparação entre as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, relativa à eficiência dos tratamentos, medida pela percentagem de controle em relação ao tratamento-testemunha, de acordo com Abbott (NAKANO et al., 1981), está apresentada nas Tabelas 14, 15 e 16.

Na Tabela 14, estão as médias da percentagem de controle de *M. incognita* em 100 cm³ de solo aos 60; 120 e 180 dias para a cultivar Amanda. A análise de variância dos dados da eficácia dos tratamentos utilizados, medida pela percentagem de controle, em relação à testemunha, pelo teste F a 5% de probabilidade, não evidenciou diferença significativa entre os tratamentos, em nenhum dos períodos avaliados. Entretanto, aos 60 dias, os tratamentos com 4 e 1 L apresentaram os melhores percentuais de controle, a saber, 74 e 46%, respectivamente, em relação à testemunha. Mesmo assim, a variabilidade dos dados, em sua maior parte resultante da distribuição irregular do nematóide no solo, foi muito alta, conforme evidenciado pelo valor do C.V. = -1.541,55 (Tabela 14). Aos 120 dias após o transplântio, os dados exibiram maior coerência, embora os tratamentos não tenham diferido entre si. Contudo, os maiores valores das eficácias dos tratamentos, em relação à testemunha, foram obtidos com 3 L da mistura de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos (95% de controle) e com a

Tabela 14. Média da eficiência dos tratamentos (% de controle), em relação à Testemunha, sobre a população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos tratamentos-testemunha (sem os fungos), Suspensão de Conídios de *Arthrobotrys oligospora*, 1 L, 2 L, 3 L e 4 L da Mistura de Partes Iguais de Arroz Colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiro de produção comercial de pimentão cultivar Amanda, em estufa, no Município de Reginópolis – SP.

TRATAMENTO (T)	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo		
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS
CONÍDIOS	- 151 a	92 a	- 696 a
1 L FUNGOS	46 a	83 a	15 a
2 L FUNGOS	- 46 a	62 a	- 315 a
3 L FUNGOS	3 a	95 a	- 266 a
4 L FUNGOS	74 a	72 a	-1074 a
Teste F	0,60 ^{NS}	0,53 ^{NS}	0,87 ^{NS}
dms (Tukey 5%)	500,58	82,32	1978,20
CV (%)	- 1541,55	46,59	- 193,87

TRATAMENTO (T)	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes		
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS
CONÍDIOS	- 37 a	84 a	- 103 a
1 L FUNGOS	81 a	92 a	- 28 a
2 L FUNGOS	28 a	87 a	- 189 a
3 L FUNGOS	72 a	98 a	59 a
4 L FUNGOS	67 a	88 a	- 311 a
Teste F	1,64 ^{NS}	0,93 ^{NS}	1,26 ^{NS}
dms (Tukey 5%)	165,30	24,90	555,71
CV (%)	179,49	12,72	- 222,32

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

^{NS} (não significativo).

suspensão de conídios de *A. oligospora* (92%), conforme consta na Tabela 14.

Aos 180 dias após o transplântio, a variabilidade dos dados acentuou-se, novamente, e a análise dos dados não evidenciou qualquer eficácia aceitável dos tratamentos no controle do nematóide no solo (Tabela 14).

Em relação à análise de variância dos dados relativos à eficácia dos tratamentos no controle do nematóide nas raízes, os dados da mencionada tabela evidenciam que, também nesse caso, não houve diferença significativa entre os tratamentos em nenhum dos intervalos de tempo considerados para a avaliação. Mesmo assim, os dados da eficácia de controle do nematóide nas raízes, aos 60 e 120 dias após o transplântio, foram menos variáveis que no solo (Tabela 14). Além disso, aos 120 dias, tanto no solo quanto nas raízes, os dados foram menos variáveis e, até, mais consistentes. Os valores negativos da percentagem de controle obtidos no teste de Abbott, conforme NAKANO et al. (1981), aos 60 e 180 dias, indicam que alguns dos tratamentos não foram eficazes no controle do nematóide e, ao contrário da hipótese aventada, permitiram o aumento da população do nematóide, em relação à testemunha (Tabela 14).

O desempenho do tratamento correspondente à suspensão de conídios, entretanto, foi considerado um fato relevante. Com efeito, as estruturas de captura dos fungos envolvidos no estudo são formadas sobre o micélio (Figura 37). Quando os fungos são aplicados ao solo na forma de substrato colonizado, há condições mais favoráveis para o crescimento inicial do fungo, favorecendo a colonização mais rápida do solo, uma vez que o micélio já está formado e o próprio substrato empregado na formulação dos fungos funciona como fonte de suprimento inicial. Por outro lado, os conídios aplicados em suspensão não terão essa fonte inicial de suprimento e ainda terão de germinar e formar o micélio para iniciar a predação, já que as estruturas de captura são formadas sobre o micélio. Mesmo assim, os resultados da aplicação de conídios em suspensão não foram favoráveis, aos 60 dias após a aplicação, conforme se observa na Tabela 14. Porém, aos 120 dias, foram considerados expressivos, tendo

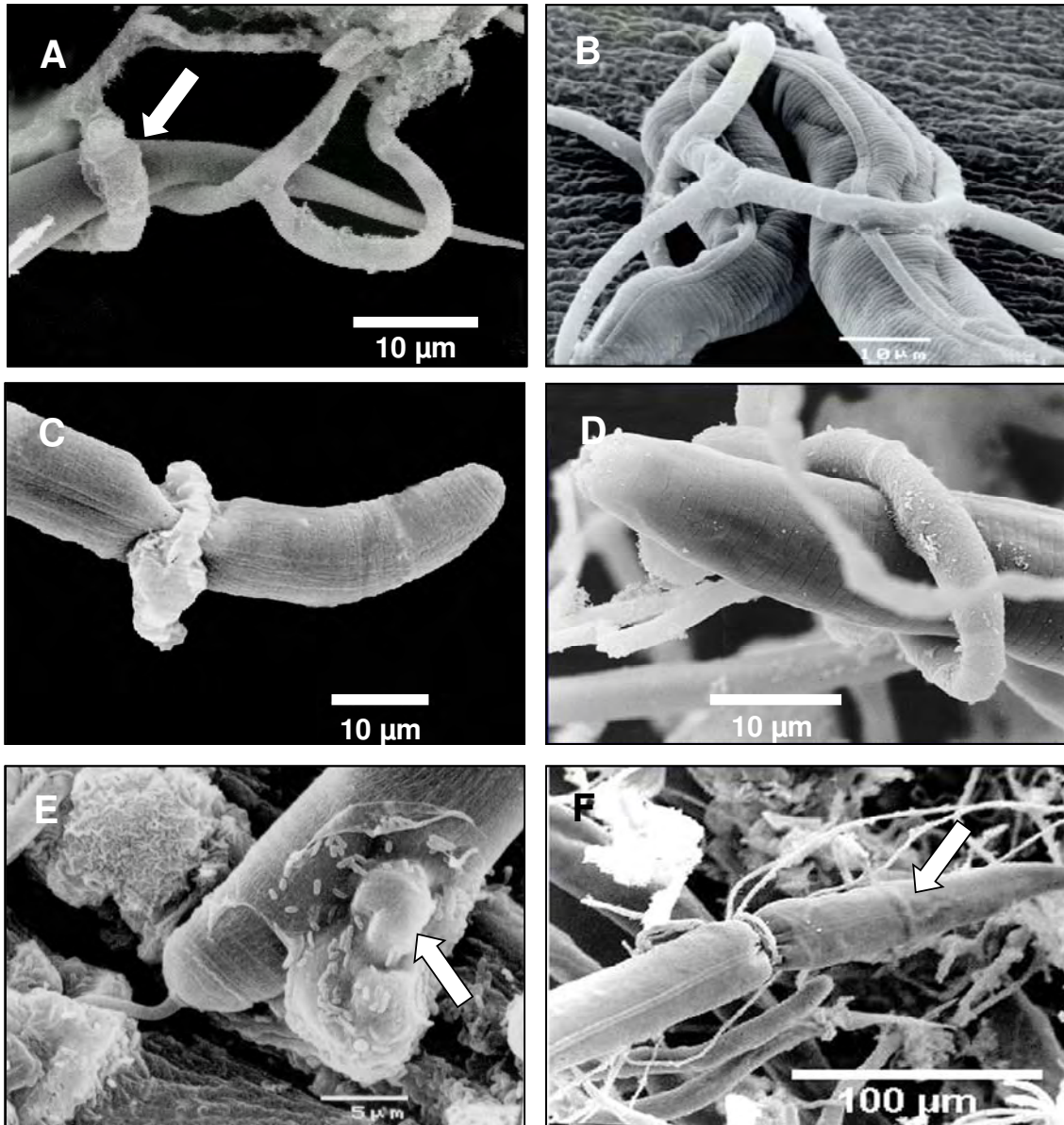


Figura 37. Eletromicrografias de varredura de nematóides capturados por diferentes estruturas de captura formadas sobre o micélio de fungos nematófagos. A e B) Rede tridimensional. C) Anel constritor. D) Anel não constritor. E) Ramo adesivo (seta). F) Anel constritor atípico não constituído por três células dilatadas e infecção já consolidada, conforme hifas em desenvolvimento no interior do corpo do nematóide (seta).

sido superior a algumas das doses de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos (Tabela 14). Esse fato sugere a possibilidade de se efetuar a aplicação dos fungos na forma de suspensão de conídios, via alguns dos sistemas de irrigação.

Havendo nematóides no solo, o micélio do fungo tende a aumentar, utilizando esses como sua principal fonte de nutrientes. Quando há uma acentuada redução da população de nematóides no solo, como consequência da predação, e não havendo disponibilidade de matéria orgânica, o micélio do fungo tende a se exaurir. Enquanto isso, a população remanescente do nematóide que estava imersa nas raízes, volta a crescer.

Em alguns hospedeiros, certas espécies de *Meloidogyne* tendem a formar massas de ovos internas nas raízes, aumentando o potencial de escape do nematóide, já que os fungos nematófagos crescem apenas na rizosfera. Nas culturas de ciclo mais longo, como é o caso do pimentão, é provável que a reincidência do nematóide ocorra por esse mecanismo. Por conseguinte, a duração do ciclo de vida do nematóide e do ciclo da cultura são aspectos-chave para se determinar quando uma ou mais aplicações devem ser feitas no decorrer do ciclo da cultura. Naturalmente, o monitoramento da população do nematóide em amostras de solo e de raízes coletadas na cultura, a intervalos regulares, é a principal fonte de informação para auxílio à tomada de decisão de quando fazer uma nova aplicação. No caso das culturas perenes e semiperenes, certamente, o controle biológico dos nematóides irá demandar múltiplas aplicações, e o monitoramento da população do nematóide, assim como a fenologia da cultura no decorrer do ano, se a cultura é irrigada ou não, são questões igualmente relevantes para se estabelecerem os intervalos entre aplicações.

O fato de a suspensão de conídios de *A. oligospora* ter proporcionado aumento e não redução da população do nematóide nas raízes, em relação à testemunha (-37% de controle), aos 60 dias após o transplântio, de acordo com o teste de Abbott (Tabela 14), e 1 L da mistura de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos ter proporcionado uma eficácia no controle do nematóide nas raízes de 81%, e 2; 3 e 4 L

terem proporcionado eficácias de 28; 72 e 67%, respectivamente, denotam certa incoerência dos resultados de difícil interpretação.

Conforme mencionado anteriormente, a adição de substrato colonizado pelos fungos permite a pronta ação desses agentes na captura dos juvenis do nematóide no solo, porque o micélio já estaria formado, e as estruturas de captura são formadas sobre ele. No caso da adição de conídios, somente depois da germinação e formação do micélio seria iniciada a captura dos juvenis do nematóide. Enquanto isso, muitos juvenis teriam penetrado nas raízes e escapado da ação dos fungos, já que a atividade desses agentes estaria restrita à rizosfera. Por conseguinte, na avaliação aos 60 dias, foi detectado aumento na população de juvenis nas raízes, em relação à testemunha (-37% de controle), com o tratamento correspondente à suspensão de conídios (Tabela 14). Por outro lado, a variação na percentagem de controle do nematóide, obtida com as diferentes doses de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos, embora não diferindo estatisticamente entre elas, poderia ser atribuída à variação na população do nematóide no solo ou à imprecisão do método de JENKINS (1964) para a quantificação da população inicial do nematóide no solo, já que muitas massas de ovos, em radículas que teriam permanecido no solo, da cultura anterior, não teriam sido detectadas por essa técnica. Aos 120 dias, tanto nas raízes quanto no solo (Tabela 14), ocorreu a estabilização do patossistema, traduzida pelos valores de C.V. de 46,59% para as análises de amostras do solo e apenas 12,72% para raízes. Embora não havendo diferença entre os tratamentos, em ambas as situações, os resultados foram mais coerentes e consistentes. Ficaram evidentes as eficácias da suspensão de conídios de *A. oligospora* no controle do nematóide, com eficiência de 92% no solo e 84 % nas raízes, e as eficácias variáveis das doses de partes iguais de substrato colonizadas por ambos os fungos, em relação à testemunha, obtidas pelo teste de Abbott, de acordo com a explanação do teste por NAKANO et al. (1981).

Aos 180 dias após o transplante, as análises tanto das amostras de solo quanto das de raízes evidenciaram a instabilidade do patossistema, haja vista os valores do

C.V. de – 193,87% para as análises das amostras do solo e –222,32% para as análises das raízes. De fato, quando houve algum nível de controle, a exemplo de 15% com 1 L da misturas dos fungos no solo, em relação à testemunha, e 59% com 3 L, nas raízes, este foi muito a quem do mínimo aceitável. Além disso, em ambas as situações, os dados indicaram que a população do nematóide estava se recompondo, caso que, provavelmente, não teria acontecido se uma ou mais reaplicações dos fungos tivessem sido efetuadas (Tabela 14).

Os dados relativos à aplicação do teste de Abbott, segundo NAKANO et al. (1981), para a eficácia dos fungos no controle de *M. incognita* associado à cultivar Margarita, estão apresentados na Tabela 15. A análise de variância pelo teste F não evidenciou diferença significativa entre os tratamentos em nenhum dos períodos avaliados, tanto para o controle do nematóide no solo quanto nas raízes. Os valores de C.V. foram negativos ou muito altos, denotando alta variabilidade nos dados em ambas as situações, como no caso anterior. O máximo nível de controle de juvenis de segundo estágio de *M. incognita* obtido no solo foi de 48%, com 3 L da mistura de partes iguais do substrato colonizado por ambos os fungos por parcela, aos 120 dias após o transplante, muito aquém, portanto, de um nível aceitável de controle (Tabela 15). Com efeito, em solos infestados, freqüentemente, níveis de população do nematóide, superiores a 10.000 juvenis de segundo estágio/100 cm³ de solo, são comuns. Nesses casos, os níveis aceitáveis de controle, medidos pelo teste de Abbott (NAKANO et al., 1981), para serem aceitáveis, deveriam aproximar-se de 100%, de preferência > 99%. No caso da cultivar Zarco (Tabela 16), o teste de Abbott indicou que os tratamentos com os fungos tiveram um efeito mais pronunciado no controle do nematóide, embora a análise de variância pelo teste F não tenha evidenciado diferença significativa entre os tratamentos, em nenhum dos períodos avaliados, quer no solo, quer nas raízes. A comparação entre as médias, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, também não evidenciou, estatisticamente, nenhum efeito particular dos tratamentos sobre a população dos juvenis do nematóide em ambas as situações.

Tabela 15. Média da eficiência (% de controle) dos tratamentos, em relação à Testemunha, relativa à população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos tratamentos-testemunha (sem os fungos), Suspensão de Conídios de *Arthrobotrys oligospora*, 1 L, 2 L, 3 L e 4 L da Mistura em Partes Iguais de Arroz Colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiro de produção comercial de pimentão cultivar Margarita, em estufa, no Município de Reginópolis – SP.

TRATAMENTO (T)	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo		
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS
CONÍDIOS	- 97 a	- 109 a	- 115 a
1 L FUNGOS	22 a	32 a	- 182 a
2 L FUNGOS	38 a	- 193 a	3 a
3 L FUNGOS	- 16 a	48 a	- 596 a
4 L FUNGOS	- 3 a	- 24 a	- 203 a
Teste F	0,71 ^{NS}	0,75 ^{NS}	1,20 ^{NS}
dms (Tukey 5%)	270,79	508,31	901,80
CV (%)	- 1092,54	- 472,59	- 188,85
TRATAMENTO (T)	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes		
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS
CONÍDIOS	24 a	38 a	30 a
1 L FUNGOS	- 101 a	- 24 a	57 a
2 L FUNGOS	35 a	- 258 a	44 a
3 L FUNGOS	53 a	- 84 a	- 43 a
4 L FUNGOS	48 a	- 113 a	- 43 a
Teste F	1,72 ^{NS}	1,01 ^{NS}	1,08 ^{NS}
dms (Tukey 5%)	213,69	482,88	202,56
CV (%)	854,03	- 250,52	1031,86

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

^{NS} (não significativo).

Tabela 16. Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação à Testemunha, relativa à população de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* no solo e nas raízes, aos 60; 120 e 180 dias após a aplicação dos tratamentos-testemunha (sem os fungos), Suspensão de conídios de *Arthrobotrys oligospora*, 1 L, 2 L, 3 L e 4 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiros de produção comercial de pimentão cultivar Zarco, em estufa, no Município de Reginópolis – SP.

TRATAMENTO (T)	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 mL de solo		
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS
CONÍDIOS	11 a	47 a	50 a
1 L FUNGOS	58 a	81 a	85 a
2 L FUNGOS	36 a	96 a	92 a
3 L FUNGOS	79 a	98 a	89 a
4 L FUNGOS	52 a	86 a	- 74 a
Teste F	0,43 ^{NS}	1,65 ^{NS}	1,11 ^{NS}
dms (Tukey 5%)	170,09	70,24	291,54
CV (%)	165,63	39,33	276,74
TRATAMENTO (T)	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes		
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS
CONÍDIOS	58 a	19 a	- 0,4 a
1 L FUNGOS	68 a	- 172 a	0,2 a
2 L FUNGOS	80 a	62 a	0,2 a
3 L FUNGOS	85 a	28 a	0,2 a
4 L FUNGOS	80 a	46 a	0,3 a
Teste F	1,49 ^{NS}	0,92 ^{NS}	0,37 ^{NS}
dms (Tukey 5%)	39,66	436,08	1,98
CV (%)	24,45	- 5731,57	915,01

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

^{NS} (não significativo).

Discutindo os níveis de dano econômico de nematóides para algumas culturas, BARKER et al. (1985) mencionaram que para *M. incognita* em tomateiro, os níveis seriam de 2-100 e, para soja, de 10-250 juvenis de segundo estágio do nematóide/100 cm³ de solo, ou seja, nessas densidades de população do nematóide, o valor dos danos causados às culturas seria igual ao do custo do controle.

Conquanto o teste de Abbott não tenha evidenciado valores aceitáveis da eficácia do controle do nematóide com os tratamentos utilizados em nenhuma das três cultivares, nem na rizosfera nem nas raízes, as plantas tratadas com certas doses de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos exibiram um padrão de crescimento muito superior ao das plantas não-tratadas, conforme ilustrado nas Figuras 32 – 36. Portanto, na avaliação dos testes sobre o controle biológico de nematóides com fungos nematófagos, as variáveis de crescimento e desenvolvimento das plantas, assim como a produção final de parcelas tratadas, comparadas às de parcelas não-tratadas, podem ser mais adequadas do que as avaliações sobre as variações na população do nematóide, quer no solo, quer nas raízes, em resposta às aplicações dos fungos. Em verdade, a pouca eficiência intrínseca do método de JENKINS (1964), para avaliações quantitativas da população dos nematóides do solo, pode ser a causa principal desses erros. De fato, BARKER (1985) menciona que a eficiência desse método varia de 17 a 20%, apenas. Apesar de baixa, a maior parte dos laboratórios ao redor do mundo a utiliza nas análises de rotina, dada a praticidade e a rapidez da técnica. Além disso, as outras técnicas de extração de juvenis de *Meloidogyne* spp. do solo não são muito mais eficientes que a técnica de JENKINS (1964) nem são práticas e rápidas quanto essa.

4.9. Estudo Preliminar do Controle Biológico de *Meloidogyne hapla* Utilizando Fungos Nematófagos em Cultivo Comercial de Roseira sob Estufa

A subpopulação de *M. hapla* utilizada no estudo foi coletada numa estufa de produção comercial de rosas, no Município de Andradadas – MG. A espécie do nematóide foi identificada no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, tendo sido documentados os caracteres morfológicos e bioquímico da espécie, conforme descrito no item 3.9. e ilustrados na Figura 38.

A análise de variância pelo teste F e o teste de Tukey, a 5% de probabilidade das médias das populações estimadas de *M. hapla* e NVL (nematóides de vida livre) no substrato, antes da aplicação da mistura de fungos nematófagos, e aos 60 dias após a aplicação, não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos, embora tenha sido observado ligeiro acréscimo na população dos nematóides, conforme consta na Tabela 17. Nas raízes, também não houve diferença significativa entre os tratamentos, embora tenha sido observada diminuição da população final para os tratamentos com 0,5 e 1,0 L da mistura dos fungos nematófagos, denotando ter havido ligeira eficácia no controle de *M. hapla*. Com NVL, no substrato, houve aumento da população final para todos os tratamentos, assim como nas raízes, salvo para 0,5 L da mistura dos fungos nematófagos (Tabela 17).

A aplicação do teste de Abbott aos dados (NAKANO et al., 1981), para a comparação da eficiência dos tratamentos, está apresentada na Tabela 18. O teste em questão também não evidenciou diferença significativa na eficácia do controle de *M. hapla* no substrato utilizado para o desenvolvimento das plantas de roseira, em cochos.

Nas raízes, os tratamentos com 0,5, 1,0 e 1,5 L da mistura de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos propiciaram percentagens de controle de *M. hapla*, em relação à Testemunha, de 98; 73 e 48%, respectivamente (Tabela 18), sugerindo

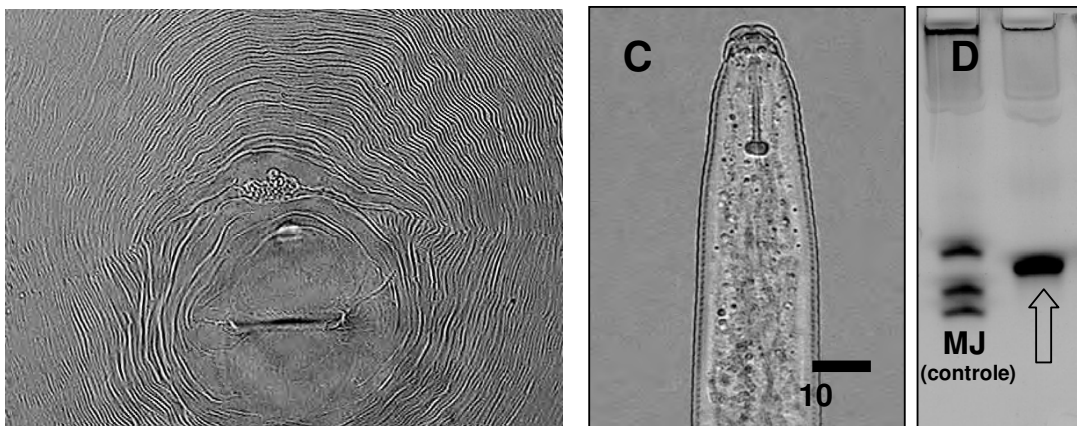


Figura 38. Subpopulação de *Meloidogyne hapla* recuperada de raízes de roseira. A) Emissão de radicelas sobre as galhas é o sintoma típico da infecção em raízes. B) Fotomicrografia do padrão perineal. C) Fotomicrografia da região labial de macho. D) Fenótipo isoenzimático para esterase com uma banda típica da espécie (seta). MJ = *Meloidogyne javanica* utilizada como controle.

Tabela 18. Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação ao tratamento-testemunha, relativa às populações de nematóides no substrato e nas raízes de roseira cultivada sob estufa, em cochos, aos 60 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, no Município de Andradadas - MG.

TRATAMENTOS	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo	
	<i>Meloidogyne hapla</i> (J2)	NVL (Nematóide de vida livre)
FUNGOS 0,5 L	- 250	- 35
FUNGOS 1,0 L	- 700	- 723
FUNGOS 1,5 L	- 375	- 50
Teste F	0,34 ^{NS}	3,48 ^{NS}
dms	1494,10	794,40
CV (%)	- 200,49	- 174,72
TRATAMENTOS	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes	
	<i>Meloidogyne hapla</i> (J2)	NVL (Nematóide de vida livre)
FUNGOS 0,5 L	98a	76
FUNGOS 1,0 L	73a	- 807
FUNGOS 1,5 L	48a	35
Teste F	0,64 ^{NS}	1,17 ^{NS}
dms	118,20	1738,20
CV (%)	96,11	- 443,85

P60 = população aos 60 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

^{NS}Não significativo

que esses fungos nematófagos podem ser empregados no manejo desse nematóide em roseiras cultivadas em cochos. Grande parte da população de NVL presente era constituída de dorilaimídeos que, usualmente, não são suscetíveis à ação desses fungos.

As amostras de substrato coletadas no momento da aplicação dos fungos e 60 dias após a aplicação da mistura de fungos nematófagos foram plaqueadas conforme descrito no item 3.1 para averiguação da presença ou ausência de fungos nematófagos nos cochos, antes da aplicação dos tratamentos. As amostras de substrato de cada repetição por tratamento utilizado foram homogeneizadas, separadamente, e plaqueadas.

Para as amostras de substrato coletadas no dia da aplicação, não foi encontrado nenhum fungo nematófago nas parcelas tratadas e não-tratadas. Nas amostras coletadas aos 60 dias após a aplicação, para as parcelas tratadas com 0,5; 1,0 e 1,5 L de mistura dos fungos nematófagos, verificaram-se muitos nematóides capturados por armadilhas de captura, conidióforos e conídios dos fungos *A. musiformis* e *A. oligospora*. Para as amostras das parcelas sem tratamento com os fungos (Testemunha), não se observou a presença dos fungos nematófagos.

4.10. Estudo do Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* Utilizando Fungos Nematófagos em Cultivo de Alface Americana ‘Lucy Brown’ sob Estufa

Uma amostra de solo e raízes coletada na estufa onde o experimento foi conduzido, no Município de Itápolis – SP, foi previamente processada no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, tendo sido constatado que o solo estava infestado por *M. incognita*, conforme as ilustrações de caracteres morfológicos e bioquímico, marcantes para identificação da espécie, incluídos na Figura 25, e *R. reniformis*, cujos principais

caracteres morfológicos para a identificação da espécie, obtidos conforme descrito no item 3.10., estão ilustrados na Figura 39.

Uma semana após a aplicação de partes iguais de substrato colonizado pelos fungos, o aspecto da colonização do solo foi documentado (Figura 40). Então, as parcelas foram amostradas, e as mudas de alface foram plantadas.

A análise de variância das médias das populações dos nematóides no solo antes da aplicação dos tratamentos, e no solo e nas raízes das plantas de alface, aos 54 dias após o transplantio, assim como a aplicação do teste de Abbott (NAKANO et al., 1981) para a comparação da percentagem de controle, não evidenciou diferença estatística significativa entre os tratamentos, conforme consta nas Tabelas 19 e 20. Contudo, é provável que as populações dos nematóides no solo tenham sido subestimadas. Conforme menção de BARKER (1985), a eficiência do método de JENKINS (1964) para extração de nematóides no solo é de apenas 20%, e ovos não são extraídos do solo por esse método. Além disso, a alta infecção de raízes e o conseqüente subdesenvolvimento das plantas em parcelas não-tratadas com os fungos, comparadas às plantas das parcelas tratadas, aos 54 dias depois do transplantio, dão suporte à hipótese de que a infestação do solo era superior à detectada pelo método de JENKINS (1964), conforme os dados da Tabela 19, uma vez que níveis tão baixos de infestação do solo não causariam infecções tão elevadas (Figura 41).

Conquanto a análise estatística não tenha detectado diferença significativa entre os tratamentos, quanto à população dos nematóides no solo e nas raízes (Tabelas 19 e 20), houve diferença significativa para a quantidade de massa de matéria fresca da parte aérea, assim como do sistema radicular (Tabela 21 e Figura 42). De fato, para as parcelas tratadas com 8 ou 4 L da mistura dos fungos, as médias para a massa fresca da parte aérea foi de 458 g para ambas as doses (Tabela 21 e Figura 42). A massa da matéria fresca das raízes foi de 20 e 18 g, respectivamente. Nas parcelas não-tratadas, esses valores foram de 107 e 9 g (Tabela 21 e Figura 42), respectivamente. Esses dados representam ganhos de mais de 400% na massa da matéria fresca da parte

aérea e de 100% na massa de raízes. O aspecto geral das plantas está documentado na Figura 43, e os resultados indicam que a mistura de *A. musiformis* e *A. oligospora* favoreceu o aumento de massa da parte aérea e de raízes. Demonstram, também, que o manejo de *M. incognita* e *R. reniformis* no cultivo de alface americana em ambiente protegido pode ser obtido com essa alternativa. Em estudo futuro para a determinação da dose adequada, deverão ser avaliadas doses equivalentes a 4 L da mistura dessa formulação dos fungos por parcela.

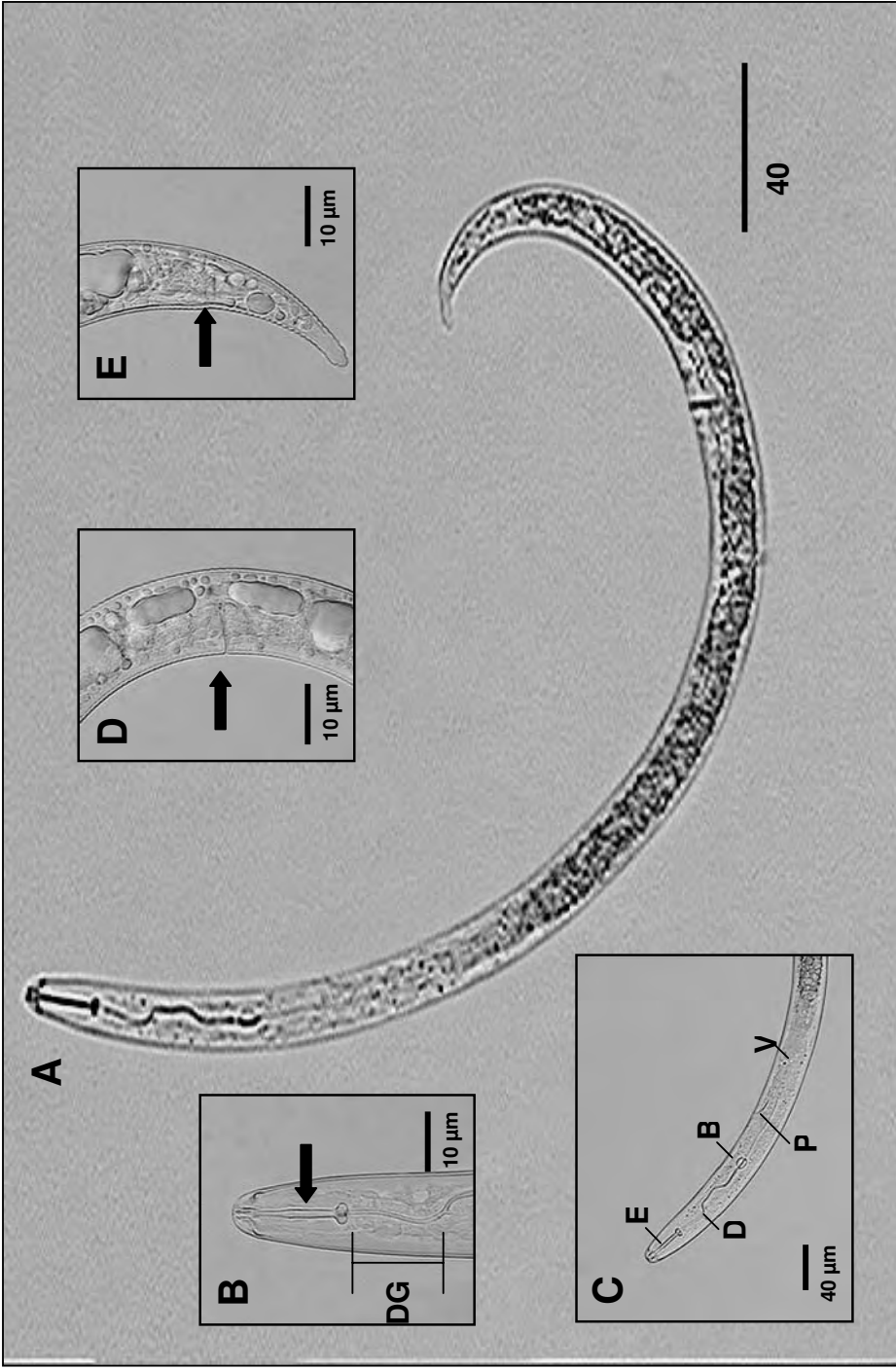


Figura 39. Fotomicrografias de fêmeas jovens de *Rotylenchulus reniformis* ilustrando os caracteres morfológicos marcantes ao microscópio óptico composto. A) Fêmea inteira. B) Região anterior mostrando o estilete (seta) e a DGO (distância da base do estilete à abertura da glândula dorsal esofagiana). C) Região labial ilustrando: estilete (E), abertura da glândula dorsal esofagiana (D), bulbo mediano ou metacorpo (B), poro excretor (P) e cárdia ou válvula esôfago intestinal (V). D) Região mediana ilustrando a vulva (seta). E) Região posterior destacando o ânus (seta).

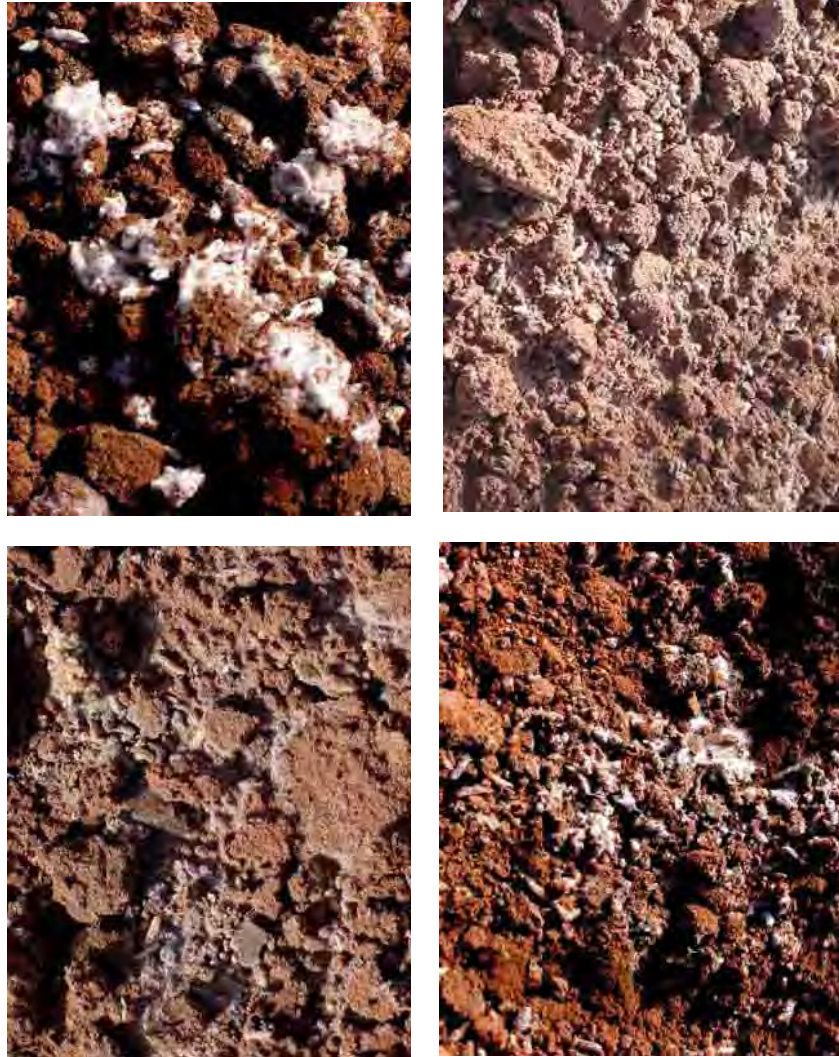


Figura 40. Aspecto da colonização do solo por fungos nematófagos uma semana após a aplicação.

Tabela 19. Média no solo e nas raízes da população inicial de nematóides (Pi = antes da aplicação) e aos 70 dias após a aplicação da mistura em partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento sem os fungos (Testemunha), em canteiro de produção de alface americana cultivar Lucy Brown, em estufa, no Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo			Nematóide de vida livre		
	<i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Rotylenchulus reniformis</i>				
	Pi	P70	Pi	P70	Pi	P70
TESTEMUNHA	10	12	42	24	44	200
FUNGOS 4 L	13	10	87	135	173	146
FUNGOS 8 L	18	1	65	106	156	292
Teste F ¹	0,24 ^{NS}	2,27 ^{NS}	0,10 ^{NS}	0,06 ^{NS}	0,24 ^{NS}	1,49 ^{NS}
CV (%)	48,18	87,87	62,18	75,86	28,66	11,32

TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes			Ovos		
	<i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Rotylenchulus reniformis</i>		Nematóide de vida livre		
	Pi	P70	Pi	P70	Pi	P70
TESTEMUNHA	-	46	-	76	-	664
FUNGOS 4 L	-	4	-	4	-	93
FUNGOS 8 L	-	10	-	24	-	184
Teste F ¹	-	2,12 ^{NS}	-	1,90 ^{NS}	-	2,58 ^{NS}
CV (%)	-	74,34	-	82,97	-	22,40
						1,23 ^{NS}
						49,59

Pi = população inicial. P70 = população 70 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

^{NS}Não significativos.

Tabela 20. Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação à Testemunha, no solo e nas raízes, relativa às populações de nematóides, aos 70 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura em partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, em canteiro de produção de alface americana cultivar Lucy Brown, em estufa, no Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo			
	<i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Nematóide de vida livre	-
FUNGOS 4 L	17 a	- 463 a	27 a	-
FUNGOS 8 L	92 a	- 329 a	- 46 b	-
Teste F ¹	1,46 ^{NS}	0,06 ^{NS}	6,35*	-
dms	152,14	1319,3	70,876	-
CV (%)	162,33	- 192,62	- 431,19	-
TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes			
	<i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Nematóide de vida livre	Ovos
FUNGOS 4 L	91 a	95 a	86 a	80 a
FUNGOS 8 L	78 a	68 a	72 a	77 a
Teste F ¹	0,60 ^{NS}	0,86 ^{NS}	0,64 ^{NS}	0,02 ^{NS}
dms	41,204	69,353	41,828	48,678
CV (%)	28,08	49,13	30,54	35,95

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

* Significativo a 5 % de probabilidade; NS (não significativo).



B



Figura 41. Plantas de alface americana 'Lucy Brown' produzidas em estufa, na região de Itápolis – SP, infestada por *Meloidogyne incognita*. A) Planta bem desenvolvida e sistema radicular praticamente sem galhas produzida em canteiro tratado com os fungos nematófagos *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*. B) Planta com desenvolvimento comprometido e sistema radicular completamente tomado por galhas formadas por *M. incognita*, produzida em canteiro sem os fungos (Testemunha). C) Sistema radicular, em detalhe, com poucas galhas, de planta produzida em canteiro tratado com fungos nematófagos. D) Sistema radicular exibindo numerosas galhas, de planta coletada em canteiro não tratado.

Tabela 21. Média das massas de matéria fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR) de 10 plantas de alface americana cultivar Lucy Brown, coletadas aleatoriamente, aos 54 dias após o transplante, nas parcelas tratadas com 4 e 8 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em estufa de produção comercial, no Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	MASSA FRESCA DA PARTE AÉREA (g)	MASSA FRESCA DAS RAÍZES (g)
TESTEMUNHA	107 b	9 b
FUNGOS 4 L	458 a	18 a
FUNGOS 8 L	458 a	20 a
Teste F	54,69**	20,69**
CV (%)	10,96	11,07

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

** Significativo a 1 % de probabilidade.

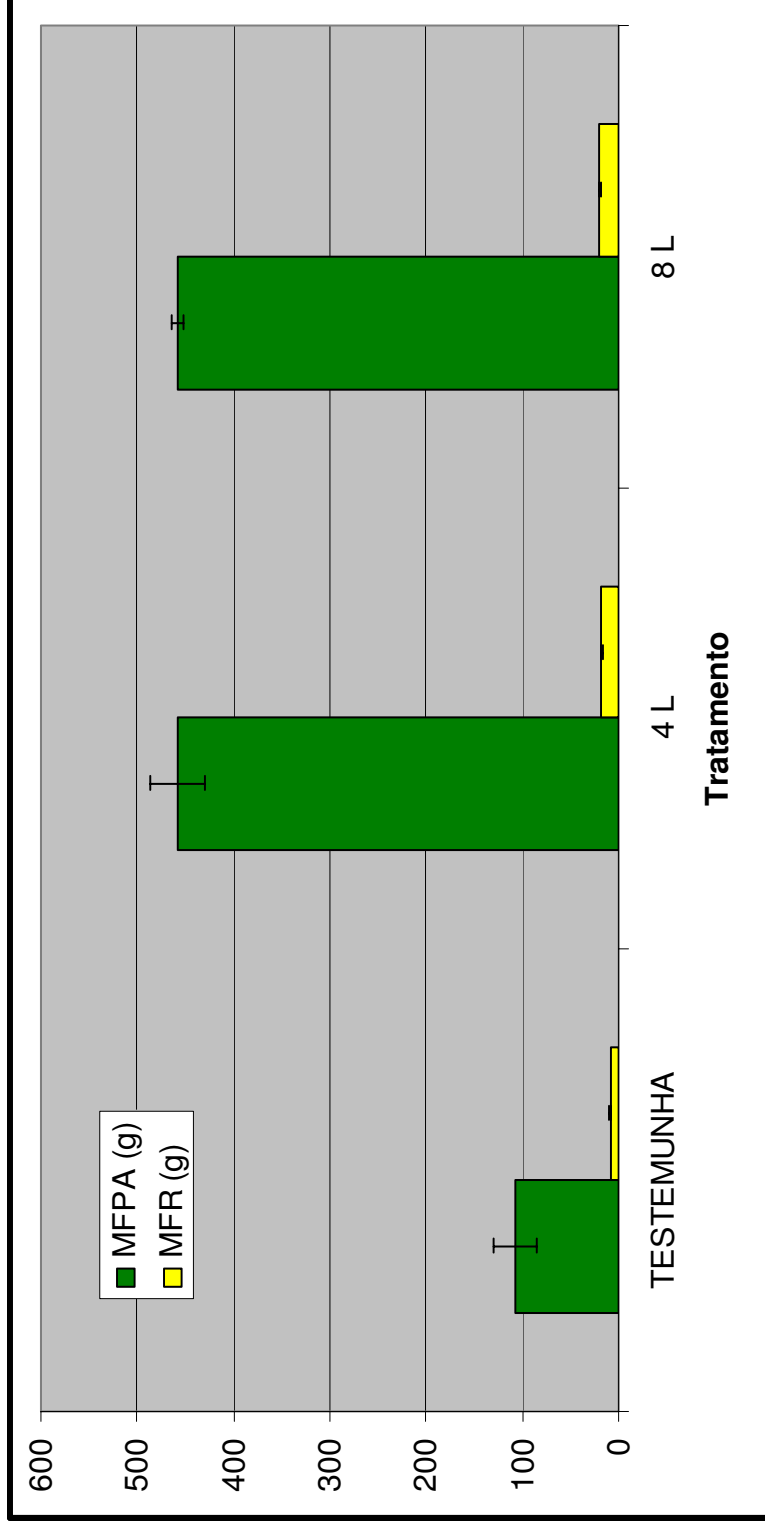


Figura 42. Média das massas de matéria fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR) de 10 plantas de alface americana cultivar Lucy Brown, coletadas aleatoriamente nas parcelas, aos 54 dias após o transplante nas parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita* e tratadas com 4 ou 8 L da mistura de partes iguais de arroz colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de estufa destinada à produção comercial, no Município de Itápolis – SP.



Figura 43. Plantas de alface americana 'Lucy Brown' produzidas em estufa, na região de Itápolis – SP, infestada por *Meloidogyne incognita*. A) Planta com aproximadamente 30 cm de diâmetro produzida em canteiro tratado com fungos nematófagos. B) Planta com aproximadamente 20 cm de diâmetro produzida em canteiro sem os fungos (Testemunha). C) Planta à esquerda produzida em parcela não tratada e planta maior, à direita, de parcela tratada com fungos nematófagos.

4.11. Avaliação Preliminar de Diferentes Substratos e Condição de Aeração do Acondicionamento para Formulação de Fungos Nematófagos

Os resultados estimados da colonização visual de diferentes produtos, visando à formulação dos fungos nematófagos, estão apresentados na Tabela 22:

Tabela 22. Avaliação visual da percentagem de colonização por *Arthrobotrys oligospora* de diferentes substratos, compostos por diferentes subprodutos da agroindústria e indústria de bebida.

Composição Substrato	% Colonização
1. 428 g de arroz : 200 mL de água;	100
2. 1 L de casca de arroz : 200 mL de água;	0
3. 1 L de casca de arroz : 1 L de farelo de arroz : 400 mL de água;	100
4. 1 L de casca de arroz : ½ L de farelo de arroz : 200 mL de água;	100
5. 1 L de bagaço de cana : 200 mL de água;	0
6. 1 L de bagaço de cana : 1 L de farelo de arroz : 400 mL de água;	100
7. 1 L de bagaço de cana : ½ L de farelo de arroz : 200 mL de água;	100
8. 1,5 L do subproduto da indústria de cerveja sem água;	0
9. 1 L de subproduto da indústria de cerveja : 500 mL de farelo de arroz (s/ água);	0
10. 1 L de sementes de goiaba (sem triturar) : 100 mL de água;	0
11. 1 L de sementes de goiaba (sem triturar) : ½ L de farelo de arroz: 200 mL de água;	50
12. 1 L de sementes de goiaba (triturada) : 100 mL de água;	0
13. 1 L de sementes de goiaba (triturada) : ½ L de farelo de arroz : 200 mL de água.	100

Entre os melhores tratamentos, dos treze utilizados, seis proporcionaram a máxima colonização do volume do substrato, a saber, os tratamentos 1; 3; 4; 6; 7 e 13 dos produtos alistados na Tabela 22 acima. Entre os produtos testados o bagaço

de cana puro e outros não proporcionaram crescimento visível do fungo. Contudo, a demanda por subprodutos de baixo custo ou mistura desses para a formulação dos fungos incentivou a pesquisas para enriquecimento de bagaço de cana visando a sua utilização numa formulação dos fungos. A mistura do bagaço de cana com farelo de arroz, nas proporções de 1:1 e 2:1, proporcionou a colonização visual de 100% da massa de substrato constituída por esses produtos, nessas proporções. Por serem os mais baratos e mais disponíveis, ao nível local, foram priorizados no estudo subsequente visando à formulação dos fungos.

4.12. Avaliação de Diferentes Substratos e Formas de Tratamento para Produção de uma Formulação dos Fungos Nematófagos

Com base nos resultados apresentados no item anterior, optou-se pela escolha da mistura de bagaço de cana com farelo de arroz, na proporção de 2:1, para os estudos subsequentes, visando ao desenvolvimento de uma formulação em larga escala dos fungos nematófagos. Nesse processo, a esterilização do substrato é uma fase vital. A esterilização é avaliada plaqueando-se, em BDA, porções do substrato esterilizado para certificação da eficácia do processo. No presente estudo, foi avaliada a esterilização do substrato por autoclavagem e irradiação com raios gama, conforme descrito no item 3.12. Os resultados desse processo estão apresentados na Tabela 23.

Os dados demonstram que os melhores tratamentos para esterilização do substrato foram autoclavagem a 120 °C e 1 atm de pressão por 40 minutos e irradiação a 25 e 50 kGy com raios gama, cujos resultados do plaqueamento de alíquotas do material, após a operação de esterilização, não exibiram crescimento de microrganismos em BDA, a partir do material esterilizado. Nas alíquotas dos tratamentos-testemunha cresceram fungos e bactérias, assim como nos materiais submetidos à irradiação com penas 5 kGy de raios gama (Tabela 23). Considerando que o custo da irradiação é dependente da dose, os dados indicam que tanto a

Tabela 23. Eficiência do controle de contaminantes presentes no substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, plaqueados em BDA, após receber os tratamentos de esterilização em autoclave (120°C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação com 5; 25 e 50 kGy de raios gama, na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP, além do tratamento-testemunha (sem esterilização)

TRATAMENTO	PRESENÇA DE CONTAMINANTE EM BDA
F AUTO I	Não
F AUTO II	Não
F 50 I	Não
F 50 II	Não
F 25 I	Não
F 25 II	Não
F 5 I	Fungo e bactéria
F 5 II	Fungo e bactéria
F TESTEMUNHA I	Fungo e bactéria
F TESTEMUNHA II	Fungo e bactéria
B AUTO I	Não
B AUTO II	Não
B 50 I	Não
B 50 II	Não
B 25 I	Não
B 25 II	Não
B 5 I	Fungo e bactéria
B 5 II	Fungo e bactéria
B TESTEMUNHA I	Fungo e bactéria
B TESTEMUNHA II	Fungo e bactéria

[F = substrato constituído da mistura de 2:1 de bagaço de cana com farelo de arroz umedecido; B = bagaço de cana umedecido; AUTO = autoclavado a 120 °C e 1 atm de pressão; 5; 25 e 50 kGy = doses de irradiação com raios gama; I e II = número de aberturas (1 ou 2) na embalagem do substrato; Testemunha = substrato não autoclavado nem irradiado].

irradiação com 25 kGy de raios gama quanto a autoclavagem a 120 °C e 1 atm, por 40 minutos, poderiam ser utilizados no processo de esterilização dos substratos para formulação de fungos nematófagos.

As médias da percentagem de colonização do substrato e a esporulação de *A. oligospora* apresentaram diferença estatística significativa, a 1% de probabilidade, e estão na Tabela 24. Os melhores tratamentos, para a percentagem de colonização do substrato, foram os tratamentos F Auto I e II (bagaço de cana enriquecido com farelo de arroz, na proporção de 2:1, com uma e duas aberturas da embalagem, autoclavado), com 74 e 85%, os quais diferiram estatisticamente dos demais tratamentos que não apresentaram colonização visual do substrato. Embora a colonização não tenha exibido o aspecto cotonoso habitual dos fungos, o exame do material ao estereoscópio revelou que houve crescimento. Para a esporulação, os melhores tratamentos foram obtidos com aqueles que não apresentaram colonização visual do substrato. Os que mais esporularam, foram B 25 I e II, com 1,23 e 1,02 x 10⁷ conídios/10 g do substrato inoculado, respectivamente, os quais não diferiram de B Auto I e B 50 I com 5,88 e 4,91 x 10⁶ conídios, respectivamente. Esses, por sua vez, não diferiram de B Auto II, B 50 II, F Auto II e F Auto I, com 3,60; 3,22; 2,59 e 2,38 x 10⁶, respectivamente, os quais diferiram dos demais tratamentos que não esporularam (Tabela 24).

Para as médias da percentagem de colonização do substrato e a esporulação de *P. lilacinus*, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, entre os tratamentos, conforme consta na Tabela 25. Os melhores tratamentos, para a percentagem de colonização do substrato, foram F Auto I e II (bagaço de cana enriquecido com farelo de arroz, na proporção de 2:1, com uma e duas aberturas na embalagem, autoclavado) com 60 e 100%, respectivamente. Esses tratamentos diferiram estatisticamente dos demais, que não apresentaram colonização visual do substrato (Tabela 25). Para a esporulação de *P. lilacinus*, não houve diferença significativa entre os tratamentos, a não ser de B 50 I (bagaço de cana tratado com 50 kGy e uma abertura da embalagem) que esporulou menos, em relação aos demais (Tabela 25).

Tabela 24. Média da percentagem de colonização visual e esporulação do substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, 21 dias após ser inoculado com *Arthrobotrys oligospora* depois de receber os tratamentos de esterilização em autoclave (120°C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação (25 e 50 kGy de raios gama), na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP.

TRATAMENTO	PERCENTAGEM DE COLONIZAÇÃO SUBSTRATO ²	ESPORULAÇÃO ¹
F AUTO I	74 a	2,38 x 10 ⁶ b
F AUTO II	85 a	2,59 x 10 ⁶ b
F 50 I	0 b	0 c
F 50 II	0 b	0 c
F 25 I	0 b	0 c
F 25 II	25 b	0 c
B AUTO I	0 b	5,88 x 10 ⁶ ab
B AUTO II	0 b	3,60 x 10 ⁶ b
B 50 I	0 b	4,91 x 10 ⁶ ab
B 50 II	0 b	3,22 x 10 ⁶ b
B 25 I	0 b	1,23 x 10 ⁷ a
B 25 II	0 b	1,02 x 10 ⁷ a
Teste F	13,39 **	952,73 **
dms	29,697	0,5634
CV (%)	145,72	8,15

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

²Para a análise estatística, os dados foram transformados em arco-seno da raiz quadrada da porcentagem. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade.

[F = substrato constituído da mistura de 2:1 de bagaço de cana com farelo de arroz umedecido; B = Bagaço de cana umedecido; AUTO = Autoclavado a 120 °C e 1 atm de pressão; 25 e 50 kGy = doses de irradiação com raios gama; I e II = número de aberturas (1 ou 2) na embalagem do substrato; Testemunha = substrato não autoclavado nem irradiado].

Tabela 25. Média da percentagem de colonização e esporulação do substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, 21 dias após ser inoculado com *Paecilomyces lilacinus* depois de receberem os tratamentos de esterilização em autoclave (120°C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação (25 e 50 kGy de raios gama), na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP.

TRATAMENTO	PERCENTAGEM DE COLONIZAÇÃO SUBSTRATO²	ESPORULAÇÃO¹
F AUTO I	60 a	4,26 x 10 ¹⁰ a
F AUTO II	100 a	6,13 x 10 ¹⁰ a
F 50 I	0 b	1,40 x 10 ⁹ ab
F 50 II	0 b	1,81 x 10 ¹⁰ a
F 25 I	0 b	1,10 x 10 ⁹ ab
F 25 II	0 b	8,60 x 10 ⁹ a
B AUTO I	0 b	8,00 x 10 ⁸ ab
B AUTO II	0 b	1,20 x 10 ⁹ ab
B 50 I	0 b	7,00 x 10 ⁸ b
B 50 II	0 b	8,00 x 10 ⁸ ab
B 25 I	0 b	3,10 x 10 ⁹ a
B 25 II	0 b	2,60 x 10 ⁹ a
Teste F	13,39 **	952,73 **
dms	29,697	0,5634
CV (%)	145,72	8,15

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

²Para a análise estatística, os dados foram transformados em arco-seno da raiz quadrada da porcentagem. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade.

[F = substrato constituído da mistura de 2:1 de bagaço de cana com farelo de arroz umedecido; B = Bagaço de cana umedecido; AUTO = Autoclavado a 120 °C e 1 atm de pressão; 25 e 50 kGy = doses de irradiação com raios gama; I e II = número de aberturas (1 ou 2) na embalagem do substrato; Testemunha = substrato não autoclavado nem irradiado].

Os substratos inoculados com os fungos foram plaqueados em ágar-água a 2% para a confirmação da colonização do material pelos fungos em estudo. Dez dias após, confirmaram-se a presença de crescimento micelial, a esporulação e a ação dos fungos *A. oligospora* (Figura 44) e *P. lilacinus* (Figura 45) no meio.

Os resultados do teste de patogenicidade de *A. oligospora* isolado dos diferentes meios nos quais houve esporulação, estão na Tabela 26. Não houve diferença significativa entre as percentagens de predação de *Panagrellus* sp. por *A. oligospora* isolado dos diferentes meios. Os valores zero para os tratamentos-testemunha decorreram do fato de que *A. oligospora* não havia sido isolado desses tratamentos.

Esses dados indicam que a patogenicidade do fungo não foi alterada nas diferentes composições e formas de esterilização do substrato.

No caso de *P. lilacinus*, também, nem a composição dos substratos nem as formas de esterilização desses influenciaram na percentagem de colonização de ovos de *M. javanica* pelo fungo, tendo sido observado que a percentagem de ovos do nematóide colonizado pelo fungo variou de 95 a 99% (Tabela 27). Na Figura 44, foram ilustrados estruturas reprodutivas de *A. oligospora* e detalhes do fungo em ação. Conídios e o conidióforo estão documentados na Figura 44 A, nematóide capturado e o seu interior completamente colonizado pelo fungo 44 B, e a região mediana de um espécime de *Panagrellus* sp. totalmente colonizada por hifas do fungo, em 44 C. Na Figura 45, foram ilustrados estruturas reprodutivas de *P. lilacinus* e detalhes do fungo em ação. Conídios e o conidióforo na forma de fiálide estão documentados na Figura 45 A, um ovo de *Meloidogyne* sp. colonizado pelo fungo, em 45 B, e um juvenil supostamente de primeiro estágio, dentro de um ovo colonizado pelo fungo, em 45 C.

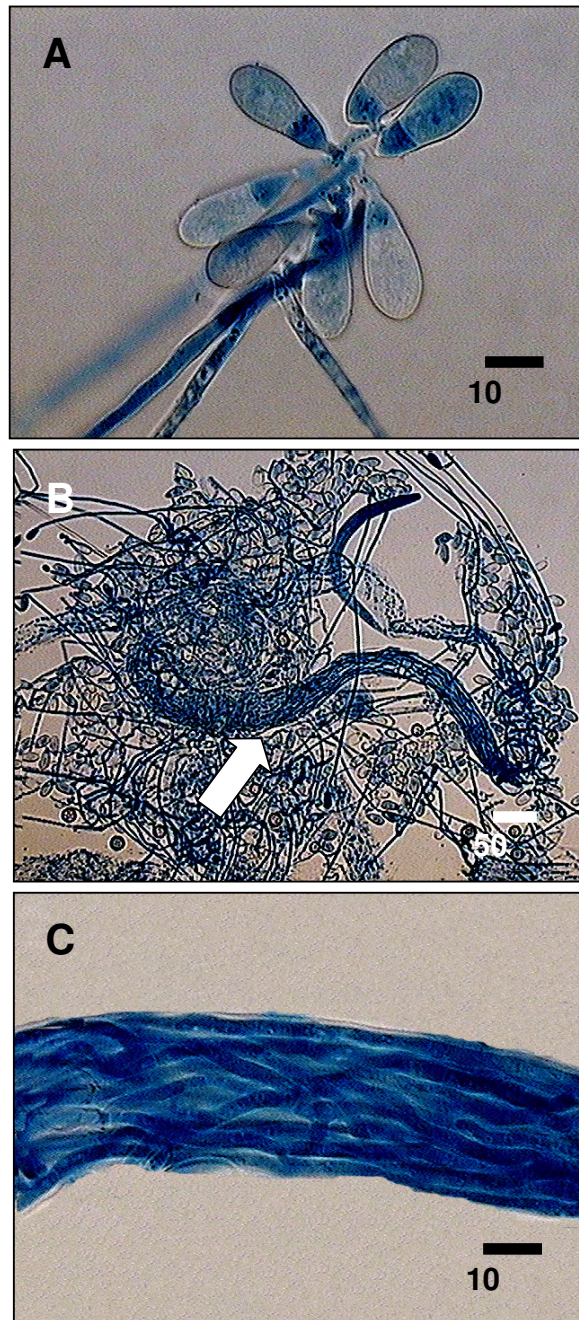


Figura 44. Fotomicrografias de *Arthrotrrys oligospora*. A) Fotomicrografia do conidióforo com conídios. B) Fotomicrografia de um espécime de *Panagrellus* sp. capturado e com seu interior completamente colonizado pelo fungo (seta). C) Região mediana de um *Panagrellus* sp. completamente colonizada pelas hifas do fungo.

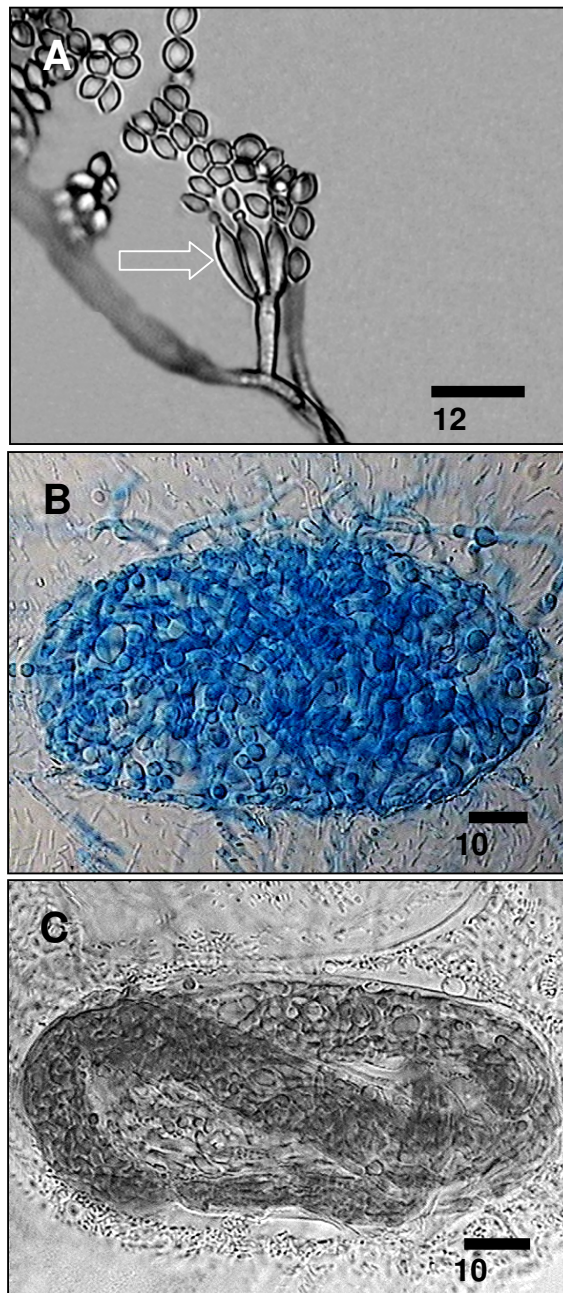


Figura 45. *Paecilomyces lilacinus*. A) Fotomicrografia da fiálide (seta) e conídios do fungo. B) Fotomicrografia de um ovo de *M. javanica* completamente colonizado pelo fungo. C) Juvenil de *Meloidogyne* sp. em estágio inicial de desenvolvimento, parasitado pelo fungo dentro do ovo.

Tabela 26. Média da porcentagem de predação de *Panagrellus* sp. por *Arthobotrys oligospora*, 4 dias após a adição do nematóide às placas de Petri contendo a cultura do fungo em ágar-água 2%, após a multiplicação por 21 dias em substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, após receberem os tratamento de esterilização em autoclave (120 °C e 1 atm por 40 minutos) ou irradiação (25 e 50 kGy de raios gama), na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP, além do tratamento-testemunha (sem esterilizar).

TRATAMENTO	PERCENTAGEM DE PREDÇÃO ¹
F AUTO I	99 a
F AUTO II	99 a
F TESTEMUNHA I	0 b
F TESTEMUNHA II	0 b
B AUTO I	99 a
B AUTO II	98 a
B 50 I	98 a
B 50 II	100 a
B 25 I	100 a
B 25 II	100 a
B TESTEMUNHA I	0 b
B TESTEMUNHA II	0 b
Teste F	590,69 **
dms	8,6254
CV (%)	6,08

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em arco-seno da raiz quadrada da porcentagem.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade.

[F = substrato constituído da mistura de 2:1 de bagaço de cana com farelo de arroz umedecido; B = bagaço de cana umedecido; AUTO = autoclavado a 120 °C e 1 atm de pressão; 25 e 50 kGy = doses de irradiação com raios gama; I e II = número de aberturas (1 ou 2) na embalagem do substrato; Testemunha = substrato não autoclavado nem irradiado].

Tabela 27. Médias da percentagem de colonização de ovos de *Meloidogyne javanica* por *Paecilomyces lilacinus*, 4 dias após a adição dos ovos às culturas do fungo em placa de Petri contendo ágar-água 2%, após a multiplicação em substrato à base de bagaço de cana + farelo de arroz e somente bagaço de cana, esterilizados em autoclave (120°C a 1 atm por 40 minutos) ou irradiados (25 e 50 kGy de raios gama), na Companhia Brasileira de Esterilização, em Jarinu – SP, além do tratamento-testemunha (sem esterilização).

TRATAMENTO	PERCENTAGEM DE PREDÇÃO¹
F AUTO I	97 ab
F AUTO II	97 ab
F 50 I	98 ab
F 50 II	95 b
F 25 I	97 ab
F 25 II	99 a
F TESTEMUNHA I	0 c
F TESTEMUNHA II	0 c
B AUTO I	98 ab
B AUTO II	99 ab
B 50 I	98 ab
B 50 II	97 ab
B 25 I	99 a
B 25 II	98 ab
B TESTEMUNHA I	0 c
B TESTEMUNHA II	0 c
Teste F	768,22 **
dms	6,7325
CV (%)	4,30

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em arco-seno da raiz quadrada da percentagem. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade.

[F = substrato constituído da mistura de 2:1 de bagaço de cana com farelo de arroz umedecido; B = bagaço de cana umedecido; AUTO = autoclavado a 120 °C e 1 atm de pressão; 25 e 50 kGy = doses de irradiação com raios gama; I e II = número de aberturas (1 ou 2) na embalagem do substrato; Testemunha = substrato não autoclavado nem irradiado].

4.13. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo Protegido de Tomateiro Cereja Orgânico com *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*

O estudo foi conduzido numa estufa instalada no Município de Itápolis – SP, com histórico de problemas causados por nematóides. A análise de uma amostra previamente coletada na mencionada estufa revelou a presença de *Meloidogyne incognita*, identificada com base nos caracteres morfológicos e bioquímico, documentados na Figura 25, além de *R. reniformis* (Figura 39), *P. brachyurus* (Figura 46), *P. zaeae* (Figura 47) e *H. dihystera* (Figura 48) estavam presentes na amostra.

A análise de variância pelo teste F e o teste de Tukey, a 5% de probabilidade para as médias das populações dos nematóides, no solo, antes da aplicação dos tratamentos e no solo e nas raízes dos tomateiros cereja, aos 45 e 90 dias após o transplântio das mudas em parcelas tratadas e não-tratadas com os fungos, estão na Tabela 28. Houve diferença significativa entre os tratamentos, a 5% de probabilidade apenas para a população de *H. dihystera*, aos 90 dias. De fato, o tratamento de 6 L da mistura dos fungos, com 276 formas ativas do nematóide, diferiu da Testemunha e de 3 L da mistura dos fungos que exibiram 58 e 50 espécimes do nematóide, respectivamente, não diferindo entre si. Nas raízes, também, só houve diferença significativa no número de ovos em 10 g de raízes, aos 45 dias, onde o tratamento de 3 L da mistura do substrato colonizado pelos fungos, com 42 ovos, diferiu da Testemunha com 97 ovos, embora esse tratamento não tenha diferido de 6 L da mistura dos fungos com 70 ovos (Tabela 28). Entretanto, níveis de população desses nematóides tão baixos, usualmente, não são observados danos visíveis às plantas. Além disso, os altos valores do CV (%) encontrados para algumas dessas variáveis denotam a variabilidade na distribuição do nematóide no solo e, também, a imprecisão da técnica de JENKINS (1964) para análise quantitativa da nematofauna do solo, já que a eficiência da técnica para a extração dos nematóides do solo é de cerca de 20%, apenas (BARKER, 1985).

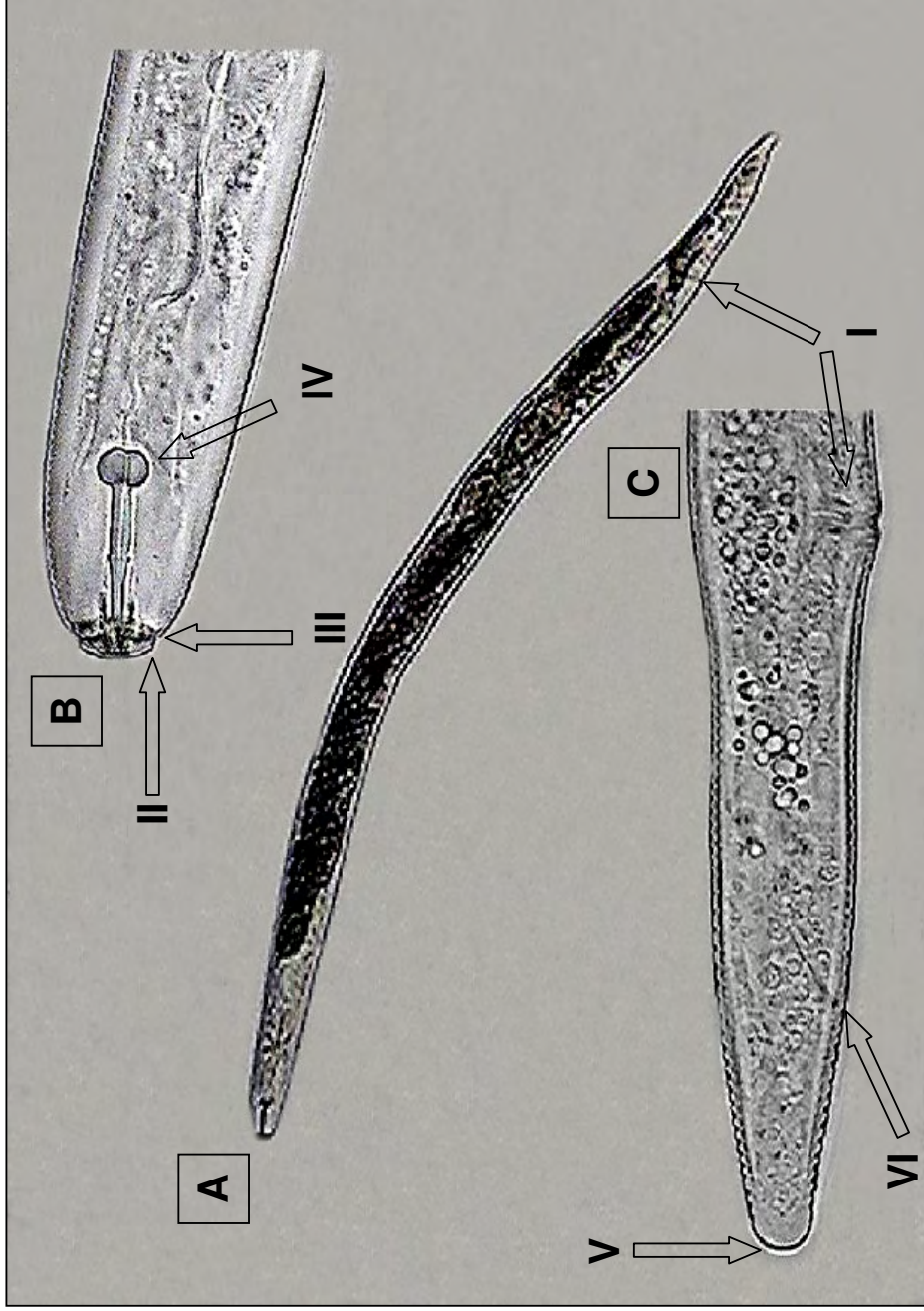


Figura 46. Fotomicrografias de fêmeas adultas de *Pratylenchus brachyurus* ilustrando os caracteres morfológicos marcantes para a identificação da espécie, documentados ao microscópio óptico composto. A) Fêmea inteira exibindo a vulva mais posterior (I), machos são raros na espécie. B) Região anterior mostrando: ângulo quase reto nas laterais da região labial (II), 2 anéis na região labial (III) e nódulos basais do estilete mais estêricos (IV). C) Região posterior exibindo cauda lisa (V) e destacando o ânus (VI).

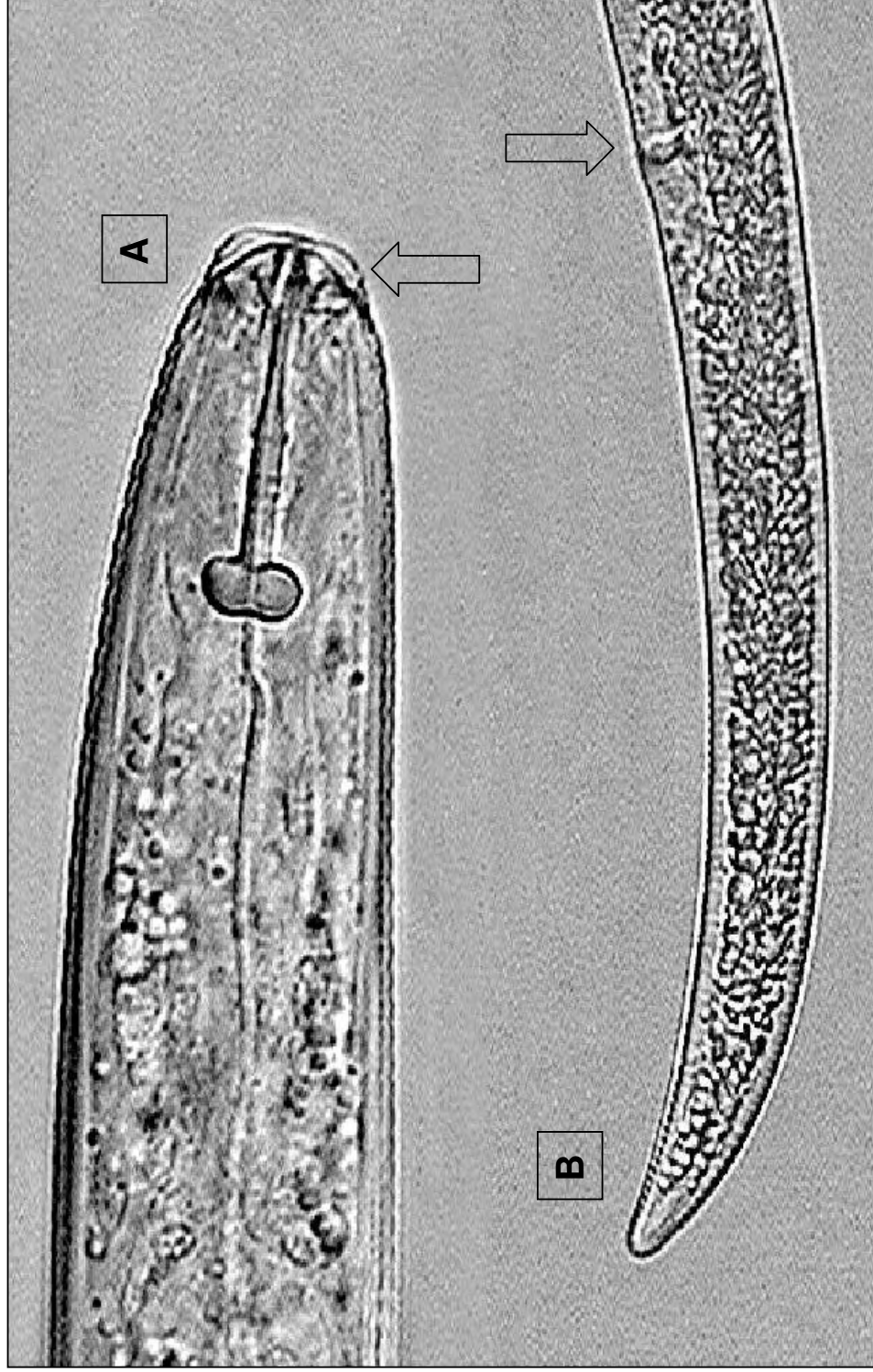


Figura 47. Fotomicrografias de fêmeas adultas de *Pratylenchus zeae* ilustrando os caracteres morfológicos marcantes ao microscópio óptico composto para a identificação da espécie. A) Região labial exibindo 3 anéis (seta). B) Região posterior destacando a vulva (seta) mais anterior que nas outras espécies do grupo.

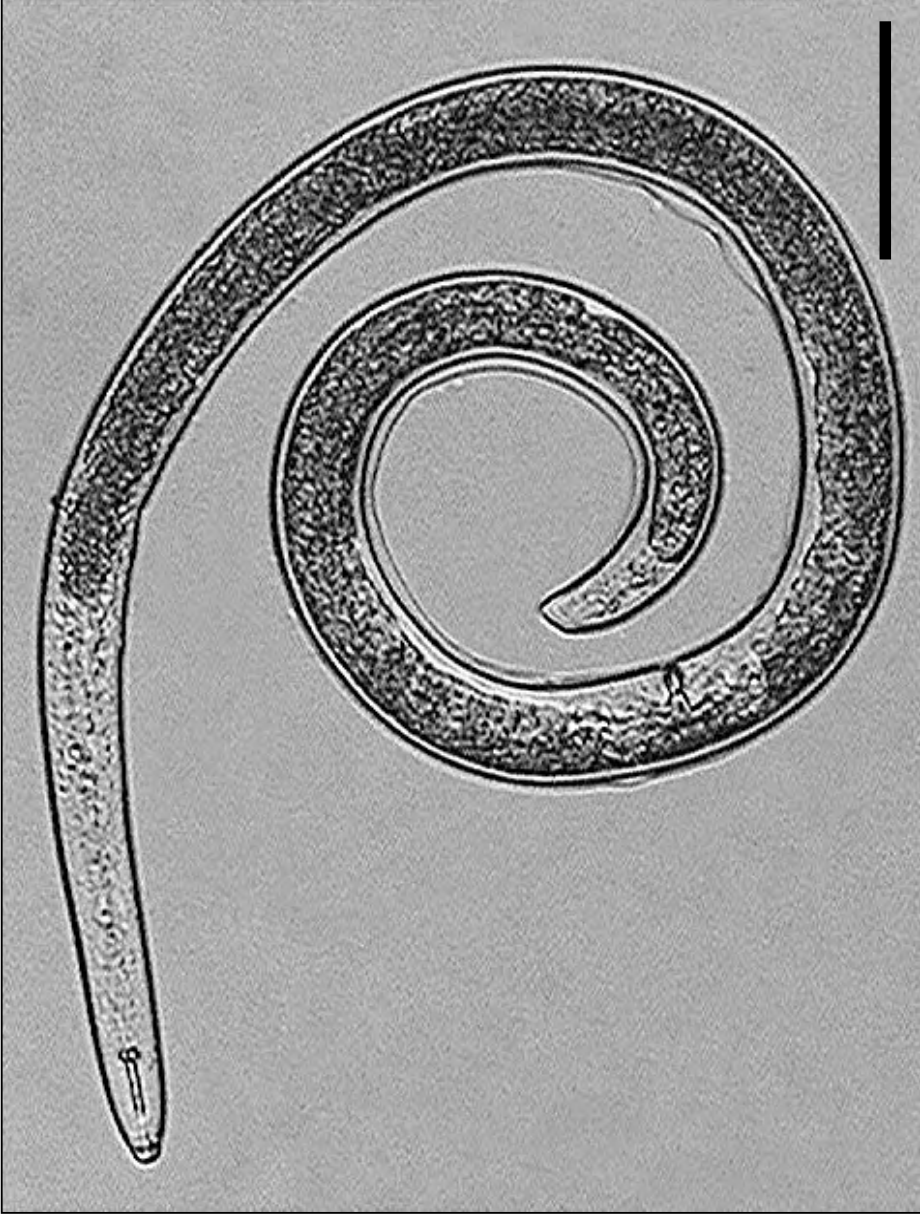


Figura 48. Fotomicrografia de uma fêmea adulta de *Helicotylenchus dihystrera* (barra da escala = 100 μm).

Tabela 28. Médias no solo e nas raízes das populações iniciais de nematóides (Pi = antes da aplicação), aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção orgânica de tomate cereja cultivar Sindy, em estufa, no Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo														
	<i>Meloidogyne</i>			<i>Pratylenchus</i>			<i>Rotylenchulus</i>			<i>Helicotylenchus</i>			Ovo		
	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90
TESTEMUNHA	186 a	11 a	8 a	2 a	4 a	4 a	468 a	50 a	97 a	269 a	80 a	58 b	-	-	-
3 L FUNGOS	50 a	6 a	35 a	0 a	1 a	3 a	670 a	58 a	72 a	150 a	50 a	50 b	-	-	-
6 L FUNGOS	40 a	1 a	34 a	12 a	0 a	3 a	649 a	51 a	187 a	241 a	68 a	276 a	-	-	-
Teste F	3,17 ^{NS}	3,11 ^{NS}	0,25 ^{NS}	1,58 ^{NS}	1,48 ^{NS}	0,53 ^{NS}	0,93 ^{NS}	0,67 ^{NS}	1,45 ^{NS}	1,07 ^{NS}	0,25 ^{NS}	6,04 [*]	-	-	-
dms	1,5746	0,8370	1,4997	1,0094	0,7428	0,8833	0,6161	1,1016	0,7600	0,4612	0,8006	0,6671	-	-	-
CV (%)	58,67	69,87	75,90	154,74	179,75	96,51	11,57	35,43	20,03	10,21	24,27	17,83	-	-	-

TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes														
	<i>Meloidogyne</i>			<i>Pratylenchus</i>			<i>Rotylenchulus</i>			<i>Helicotylenchus</i>			Ovo		
	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90
TESTEMUNHA	-	65 a	23 a	-	97 a	295 a	-	7 a	0 a	-	32 a	63 a	-	97 a	34 a
3 L FUNGOS	-	6 a	246 a	-	62 a	264 a	-	1 a	0 a	-	31 a	37 a	-	42 b	43 a
6 L FUNGOS	-	1 a	3 a	-	72 a	290 a	-	2 a	0 a	-	42 a	89 a	-	70 ab	34 a
Teste F	-	1,36 ^{NS}	0,25 ^{NS}	-	0,16 ^{NS}	0,26 ^{NS}	-	0,50 ^{NS}	-	-	0,02 ^{NS}	1,34 ^{NS}	-	5,27 [*]	0,23 ^{NS}
dms	-	1,4189	3,9485	-	0,8022	0,8899	-	0,9758	-	-	0,8005	0,6531	-	0,3444	0,7195
CV (%)	-	123,62	152,50	-	23,12	19,65	-	141,42	-	-	28,32	19,55	-	9,68	25,09

Meloidogyne incognita, *Pratylenchus zeae* e *P. brachyurus*, *Rotylenchulus reniformis* e *Helicotylenchus dihystra*.

Pi = população inicial; P45 e 90 = população aos 45 e 90 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

* Significativo a 5% de probabilidade; ^{NS} (não significativo).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A análise de variância da eficiência dos tratamentos, medida pela porcentagem de controle dos nematóides, segundo Abbott (NAKANO et al., 1981), e a comparação entre as médias das populações dos nematóides, nos diferentes períodos de avaliação, estão na Tabela 29.

A análise de variância pelo teste F, a 5% de probabilidade da eficácia dos tratamentos no controle dos nematóides no solo, com base no teste de Abbott, revelou diferença significativa apenas entre 3 e 6 L da mistura de partes iguais do substrato colonizado pelos fungos, aos 45 dias após o transplante. A comparação entre médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, evidenciou que 6 L da mistura propiciou 91% de controle dos juvenis de *M. incognita* no solo em relação à testemunha, diferindo de 3 L da mistura, que teve eficácia de apenas 46% (Tabela 29). Para *Pratylenchus* spp., foram obtidos 100% de controle, em relação ao tratamento-testemunha, com 6 L da mistura, aos 45 dias após o transplante, e 75% com 3 L, embora esses tratamentos não tenham diferido entre si. Para os demais nematóides nas diferentes épocas de avaliações, a análise de variância não demonstrou diferença estatística significativa entre os tratamentos, e, por conseguinte, as médias também não diferiram entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, sendo que as porcentagens de controle foram muito aquém do mínimo requerido (Tabela 29).

Em relação à porcentagem de controle dos nematóides nas raízes, calculada com base no teste de Abbott, a análise de variância não revelou diferença significativa entre os tratamentos para nenhum dos nematóides, em nenhum dos períodos avaliados (Tabela 29). Entretanto, foram obtidos 99% de controle de juvenis de *Meloidogyne incognita* com 6 L da mistura e 91% com 3 L da mistura, em relação ao tratamento-testemunha, embora essas médias não tenham diferido entre si. Também, não foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos para nenhum dos outros nematóides em nenhum dos outros períodos de avaliação. Os valores discrepantes obtidos para muitas dessas variáveis, inclusive para os valores altos ou negativos do C.V. (Tabela 29), denotam variabilidade na distribuição dos nematóides no solo e

Tabela 29. Médias da eficiência dos tratamentos (% de controle dos nematóides), em relação à Testemunha, no solo e nas raízes, aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, em canteiro de produção orgânica de tomate cereja cultivar Sindy, infestados, em estufa do Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo											
	<i>Meloidogyne</i>		<i>Pratylenchus</i>		<i>Rotylenchulus</i>		<i>Helicotylenchus</i>		Ovo			
	P45	P90	P45	P90	P45	P90	P45	P90	P45	P90		
3 L FUNGOS	46 b	- 338 a	75 a	25 a	- 16 a	23 a	38 a	14 a	-	-	-	
6 L FUNGOS	91 a	- 325 a	100 a	25 a	- 2 a	- 99 a	15 a	- 375 a	-	-	-	
Teste F	10,71 **	0,00 ^{NS}	1,00 ^{NS}	0,00 ^{NS}	0,07 ^{NS}	1,75 ^{NS}	0,13 ^{NS}	7,61 ^{NS}	-	-	-	
dms	33,9700	1028,30	61,1730	193,45	134,17	226,19	153,58	345,53	-	-	-	
CV (%)	28,80	- 179,42	40,40	447,21	- 861,61	- 346,15	338,15	- 110,31	-	-	-	
TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes											
	<i>Meloidogyne</i>		<i>Pratylenchus</i>		<i>Rotylenchulus</i>		<i>Helicotylenchus</i>		Ovo			
	P45	P90	P45	P90	P45	P90	P45	P90	P45	P90		
3 L FUNGOS	91 a	- 970 a	36 a	11 a	86 a	0 a	3 a	41 a	57 a	- 27 a		
6 L FUNGOS	99 a	87 a	26 a	2 a	71 a	0 a	- 31 a	- 41 a	28 a	0 a		
Teste F	1,92 ^{NS}	0,99 ^{NS}	0,08 ^{NS}	0,05 ^{NS}	0,43 ^{NS}	-	0,21 ^{NS}	3,23 ^{NS}	3,38 ^{NS}	0,14 ^{NS}		
dms	13,5730	2603,00	88,6860	97,048	53,3960	0	183,04	112,35	38,423	172,67		
CV (%)	8,29	- 340,91	165,73	919,25	39,27	-	- 752,28	infinito	52,53	- 754,02		

Meloidogyne incognita, *Pratylenchus zeae* e *P. brachyurus*, *Rotylenchulus reniformis* e *Helicotylenchus dihystrera*.

P45 e 90 = população aos 45 e 90 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

** Significativo a 1% de probabilidade; NS (não significativo).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

imprecisão da técnica de JENKINS (1964) para análise quantitativa de amostras. Com efeito, em que pese as diferenças e os relativamente altos níveis de controle dos nematóides em alguns dos casos, as médias da avaliação do peso total de frutos de 10 plantas de tomateiro cereja cultivar Sindy, escolhidas aleatoriamente, de cada uma das parcelas, com seu respectivo tratamento, também não revelaram diferença estatística significativa entre os tratamentos (Tabela 30). Contudo, na prática, níveis de população dos nematóides que estão associados a danos significativos à produção do tomateiro, geralmente são mais altos do que esses que foram observados no presente estudo.

Para as amostras de solo coletadas no dia da aplicação, não foi encontrado nenhum fungo nematófago nas parcelas tratadas e não-tratadas. Nas amostras coletadas aos 45 e 90 dias após a aplicação, para as parcelas tratadas com 3 e 6 L da mistura dos fungos nematófagos, verificaram-se muitos nematóides capturados por armadilhas, conidióforos e conídios dos fungos *A. musiformis* e *A. oligospora*, além de estruturas reprodutivas de *P. lilacinus*. Para as amostras das parcelas sem tratamento com os fungos (Testemunha), não se observou a presença dos fungos nematófagos.

4.14. Controle Biológico de Nematóides em Cultivo de Quiabeiro Orgânico com *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*

As populações de nematóides identificadas nas amostras de solo e raízes foram: *M. incognita*, *P. brachyurus*, *P. zaeae*, *H. dihystra*, *Tylenchus* sp., *Aphelencoides* sp. e *Ditylenchus* sp., como previamente mencionado no item 3.14. Embora diferentes gêneros e espécies tenham sido identificados nas amostras, as populações de *M. incognita*, *P. brachyurus*, *P. zaeae* e *H. dihystra* apresentaram os maiores níveis de população no solo. Por conseguinte, sobre essas populações, foi posta maior ênfase na avaliação.

Tabela 30. Médias da massa total de frutos de 10 plantas de tomateiro cereja cultivar Sindy, em canteiros de produção orgânica tratados com diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em estufa, no Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	PESO TOTAL DE FRUTOS (kg)
TESTEMUNHA	4,2 a
3 L FUNGOS	4,5 a
6 L FUNGOS	4,0 a
Teste F ¹	0,72 ^{NS}
dms	0,0990
CV (%)	6,99

¹Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\log(x+1)$.

Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos.

A análise de variância pelo teste F e o teste de Tukey, a 5% de probabilidade para as médias das populações dos nematóides antes da aplicação dos tratamentos, no solo e nas raízes de quiabeiro, aos 45 e 90 dias após o transplântio das mudas, estão na Tabela 31. A análise de variância pelo teste F não revelou diferença significativa entre os níveis de população dos nematóides, antes da aplicação dos tratamentos, nem aos 45 ou 90 dias depois do transplântio para nenhum dos nematóides considerados, nem no solo nem nas raízes. A não-detecção de juvenis de *M. incognita* na análise prévia do solo (Tabela 31) e a obtenção de números muitos discrepantes, aos 45 e 90 dias após o transplântio das mudas, tanto no solo quanto nas raízes, estão denotando a enorme variabilidade na distribuição dos nematóides, já observada nos ensaios anteriores e confirmada pelos altos valores do CV em todos esses casos. Entretanto, tanto no solo como nas raízes, os níveis de população dos nematóides, nos diferentes

Tabela 31. Médias, no solo e nas raízes, da população inicial (Pi = antes da aplicação) de nematóides, aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura de partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, e o tratamento-testemunha (sem os fungos), em canteiro de produção orgânica de quiabeiro cultivar Santa Cruz, no Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo											
	<i>Meloidogyne</i>			<i>Pratylenchus</i>			<i>Helicotylenchus</i>			Ovos		
	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90
TESTEMUNHA	0	16	697	0	2	10	3	8	22	-	-	-
FUNGOS	0	11	349	1	1	5	2	3	10	-	-	-
Teste F ¹	-	0,01 ^{NS}	0,19 ^{NS}	2,33 ^{NS}	0,10 ^{NS}	0,45 ^{NS}	0,75 ^{NS}	2,26 ^{NS}	0,02 ^{NS}	-	-	-
dms	-	0,8528	1,2091	0,2454	0,3526	0,3913	0,4318	0,5728	0,7594	-	-	-
CV (%)	-	140,58	68,14	261,86	290,15	46,74	136,95	120,81	94,90	-	-	-
TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes											
	<i>Meloidogyne</i>			<i>Pratylenchus</i>			<i>Helicotylenchus</i>			Ovos		
	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90	Pi	P45	P90
TESTEMUNHA	-	50	1535	-	15	59	-	2	6	-	26	1602
FUNGOS	-	7	749	-	7	29	-	1	3	-	27	800
Teste F ¹	-	0,19 ^{NS}	0,20 ^{NS}	-	1,19 ^{NS}	0,30 ^{NS}	-	0,54 ^{NS}	0,02 ^{NS}	-	0,64 ^{NS}	0,68 ^{NS}
dms	-	0,8622	1,2567	-	0,7358	0,8704	-	0,3493	0,5656	-	0,4504	0,7790
CV (%)	-	122,00	49,10	-	104,49	63,73	-	221,53	148,16	-	33,73	27,41

Meloidogyne incognita, *Pratylenchus zeae* e *P. brachyurus* e *Helicotylenchus dihystrera*.

Pi = população inicial. P45 e 90 = população aos 45 e 90 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

¹ Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos.

períodos de avaliações para o tratamento com os fungos, sempre foram menores que a Testemunha (sem os fungos), notadamente em relação a *M. incognita*, que é a espécie mais agressiva ao quiabeiro, entre todas as que foram detectadas na área do experimento (Tabela 31).

Para as médias da eficácia dos tratamentos, medidas pelas percentagens de controle, em relação à testemunha, calculadas pelo teste de Abbott (NAKANO et al., 1981), conforme consta na Tabela 32, os dados indicam que os níveis de controle foram aquém dos níveis mínimos de eficiência requeridos para se obter um desenvolvimento da cultura livre de danos mais sérios, causados pelos nematóides. De fato, os dados estão indicando que o nível máximo de controle de *M. incognita*, no solo, em relação à testemunha, foi obtido aos 90 dias e foi de apenas 50%. Nas raízes, o nível máximo de controle foi de 86%, obtido aos 45 dias após o transplântio das mudas na área (Tabela 32). Para *Pratylenchus* spp., o máximo nível de controle no solo foi obtido aos 45 dias e foi de, apenas, 75%, sendo que, nas raízes, o máximo percentual de controle foi de 57%, também obtido aos 45 dias.

Em que pesem esses dados estatísticos, plantas de quiabeiro nas parcelas tratadas com a mistura dos fungos nematófagos e sem tratamento (Testemunha) foram documentadas em diferentes períodos após o transplântio das mudas. Na Figura 49, foram ilustradas plantas de quiabeiro, cultivar Santa Cruz, em sistema de produção orgânico tratadas e não-tratadas com os fungos nematófagos aos 25 dias após o transplântio. Plantas com 62 dias após o transplântio, em parcela tratada e não-tratada com os fungos com diferença visível no desenvolvimento, estão ilustradas na Figura 50. Na Figura 51, também é nítida a diferença das plantas bem desenvolvidas, aos 62 dias do transplântio, na parcela tratada com os fungos, em relação às plantas da parcela não-tratada. Observou-se, também, na face inferior das folhas de plantas com 62 dias do transplântio, pesada infestação por pulgões nas parcelas não-tratadas com a mistura dos fungos, em relação às plantas das parcelas tratadas (Figura 52). Atribui-se esse fato ao estresse resultante da infecção dos nematóides às plantas da parcela sem

Tabela 32. Média da eficiência (% de controle em relação à testemunha) dos tratamentos no solo e nas raízes, sobre as populações de nematóides, aos 45 e 90 dias após a aplicação de diferentes doses da mistura em partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, em área de produção comercial orgânica de quiabo cultivar Santa Cruz, no Município de Itápolis – SP.

TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo							
	<i>Meloidogyne</i>		<i>Pratylenchus</i>		<i>Helicotylenchus</i>		Ovos	
	P45	P90	P45	P90	P45	P90	P45	P90
4 L FUNGOS	34	50	75	50	69	53	-	-
CV (%)	349,73	228,11	94,28	67,61	102,39	115,15	-	-
TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes							
	<i>Meloidogyne</i>		<i>Pratylenchus</i>		<i>Helicotylenchus</i>		Ovos	
	P45	P90	P45	P90	P45	P90	P45	P90
4 L FUNGOS	86	51	57	51	- 25	54	- 2	50
CV (%)	20,35	123,62	109,46	80,66	-1126,30	138,33	- 7825,96	117,37

Meloidogyne incognita, *Pratylenchus zeae* e *P. brachyurus* e *Helicotylenchus dihystra*.

P45 e 90 = população aos 45 e 90 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos.



Figura 49. Plantas de quiabeiro orgânico em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita* e tratadas (T) com a mistura dos fungos nematófagos e sem tratar – NT (Testemunha), aos 25 dias após o transplântio, na região de Itápolis – SP.

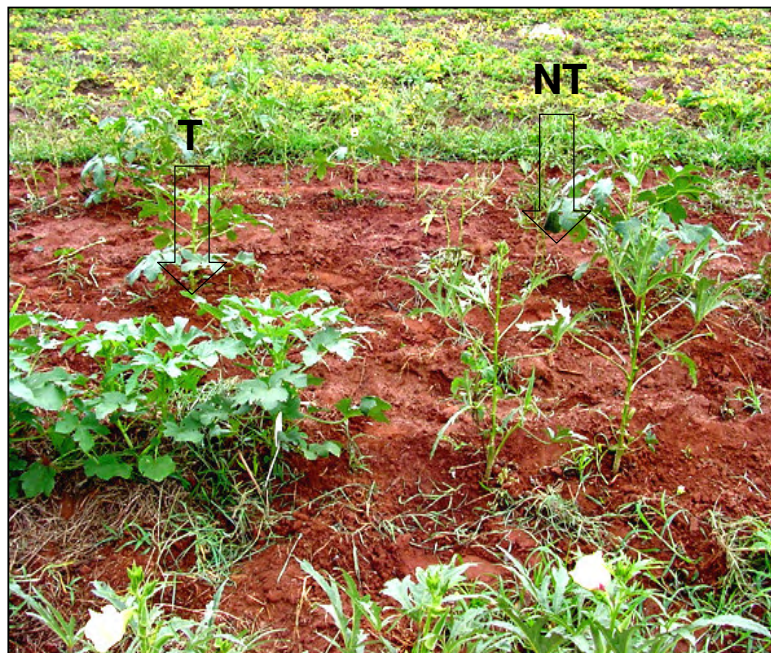


Figura 50. Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, em parcelas infestadas com *Meloidogyne incognita* e tratadas com a mistura de fungos nematófagos (T), bem desenvolvidas e exibindo expressiva massa foliar e Testemunha (não tratada = NT), com desenvolvimento comprometido e pouca massa foliar, aos 62 dias após o transplante, no Município de Itápolis – SP.

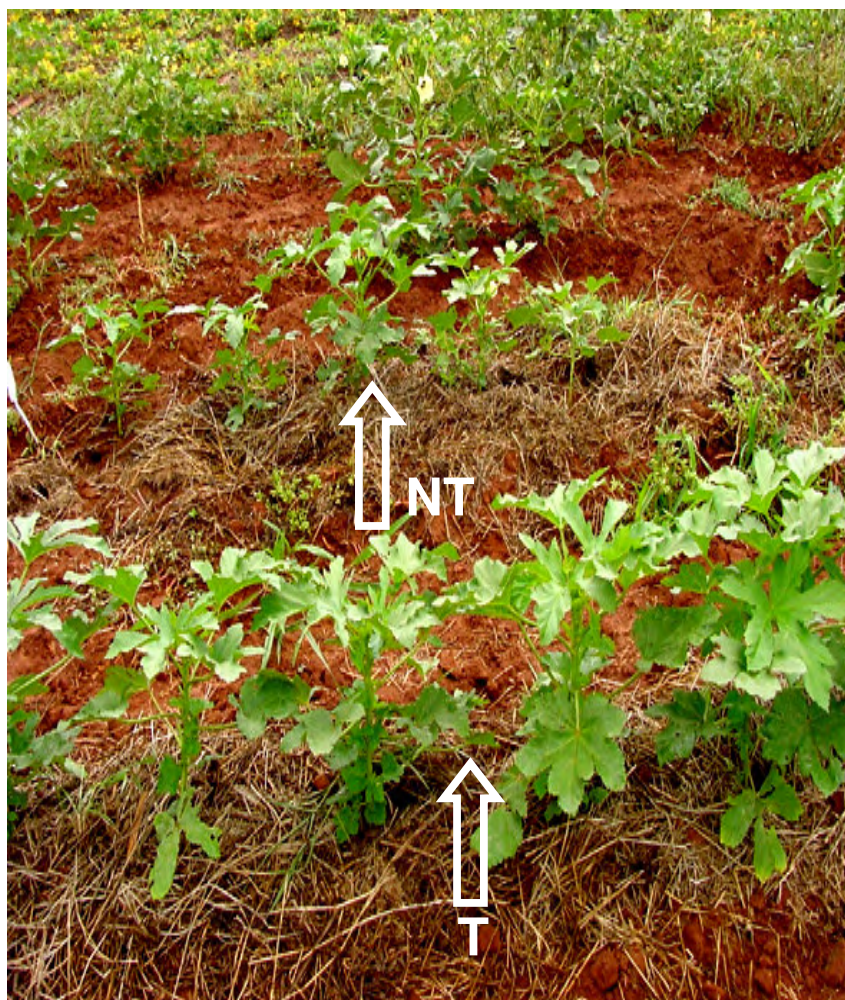


Figura 51. Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, em parcelas infestadas por *Meloidogyne incognita* e tratadas com a mistura de fungos nematófagos (T) bem desenvolvidas e Testemunha (não tratada = NT) com desenvolvimento comprometido, aos 62 dias após o transplante, no Município de Itápolis – SP.

tratamento (Testemunha). Com efeito, a predisposição de plantas à infecção por outros patógenos ou à infestação de outros agentes já é fato conhecido e discutido (BARKER et al., 1998).

Na Figura 53, estão ilustradas plantas retiradas de parcela-testemunha (não-tratada = NT), com desenvolvimento comprometido, exibindo pouca massa foliar e raízes tomadas por galhas formadas por *M. incognita*, enquanto a planta retirada de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos (T), está mais bem desenvolvida, com expressiva formação de folhas e isenta de galhas, aos 62 dias após o transplântio. Nas Figuras 54 e 55, são documentadas plantas de quiabeiro orgânico, aos 123 dias após o transplântio, retiradas de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos, visualmente com melhor desenvolvimento do que as plantas de parcelas-testemunha (não-tratadas = NT), as quais também exibem abundante formação de galhas nas raízes. Por conseguinte, conquanto a análise estatística dos dados não revele diferenças entre os tratamentos, os resultados demonstram que o tratamento com os fungos nematófagos tem eficácia no controle dos nematóides e que outros testes estatísticos devem ser estudados para melhor discriminar as diferenças entre os tratamentos. Métodos de extração de nematóides de amostras de solo e raízes com maior eficiência também devem ser pesquisados.

Amostras de solo coletadas no momento da aplicação, aos 45 e 90 dias após a aplicação da mistura de fungos nematófagos, foram plaqueadas conforme descrito no item 3.1. para a verificação da presença de fungos nematófagos nos canteiros. Para as amostras de solo coletadas no dia da aplicação, não foi encontrado nenhum dos fungos nematófagos envolvidos no estudo, nas parcelas tratadas e não-tratadas. Nas amostras coletadas aos 45 e 90 dias após a aplicação, para as parcelas tratadas com 4 L da mistura dos fungos nematófagos, verificaram-se muitos nematóides capturados por armadilhas, conidióforos e conídios dos fungos *A. musiformis* e *A. oligospora*, além das estruturas reprodutivas de *P. lilacinus*. Para as amostras das parcelas sem tratamento com os fungos (Testemunha), não se observou a presença desses fungos.



Figura 52. Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, em parcelas tratadas com a mistura de fungos nematófagos (T) e Testemunha (não tratada = NT), aos 62 dias após o transplante. A) Face abaxial das folhas, de plantas nas parcelas tratadas sem pulgão. B) Região inferior das folhas completamente colonizadas por pulgões, de plantas sem tratamento (Testemunha).



Figura 53. Plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, retiradas de parcela Testemunha (não tratada = NT), apresentando desenvolvimento comprometido, poucas folhas e raízes tomadas por galhas causadas por *Meloidogyne incognita*, enquanto as plantas, como a da direita (T), retiradas de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos, estão bem desenvolvidas, com muitas folhas e sem galhas nas raízes, aos 62 dias após o transplante.



Figura 54. Planta de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, retirada de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos (T), está bem desenvolvida e sem galhas nas raízes. Enquanto a planta retirada de parcela-Testemunha (não tratada = NT), está com desenvolvimento menor e as raízes tomadas por galhas causadas por *Meloidogyne incognita*, aos 123 dias após o transplântio, em canteiros infestados, na região de Itápolis – SP.



Figura 55. Sistemas radiculares de plantas de quiabeiro orgânico cultivar Santa Cruz, retiradas de parcela tratada com a mistura de fungos nematófagos (T) sem galhas nas raízes, enquanto o sistema radicular de planta retirada de parcela-Testemunha (não tratada = NT), está completamente tomado por galhas formadas por *Meloidogyne incognita*, aos 123 dias após o transplante, em parcelas infestadas, no Município de Itápolis – SP.

4.15. Controle Biológico de *Meloidogyne mayaguensis* em Goiabeira com *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactylella* sp.

As populações de nematóides identificadas nas amostras de solo e raízes foram: *Meloidogyne mayaguensis* (Figura 56) e *Helicotylenchus dihystrera*, conforme descrito no item 3.15.

A análise de variância e o teste de Tukey, a 5% de probabilidade para as médias das populações dos nematóides no solo e nas raízes, considerando-se a população inicial (P_i = antes da aplicação), aos 60 e 120 dias após a aplicação dos tratamentos, estão na Tabela 33. Para as populações de nematóides em 100 cm³ de solo, ocorreu diferença estatística significativa para *M. mayaguensis*, com a população inicial para o tratamento com 8 L da mistura de fungos nematófagos com 134 juvenis de segundo estágio/100 cm³ da amostra, diferindo a 5% de probabilidade da Testemunha com 7 juvenis. Esse fato confirma o padrão de distribuição irregular do nematóide no solo, mesmo em se tratando de pequenas áreas (distribuição binomial) e torna-se um complicador a mais, no processo de avaliação dos experimentos a campo.

Aos 120 dias após a aplicação, também ocorreu diferença estatística significativa, a 5% de probabilidade, para a população de juvenis de segundo estágio de *M. mayaguensis* no solo entre o tratamento-testemunha com 428 juvenis e Aldicarb com 68 juvenis. Em 10 g de raízes, ocorreu diferença estatística significativa para *M. mayaguensis*, aos 120 dias após a aplicação, entre o tratamento-testemunha com 12.670 ovos e juvenis, e os demais, à exceção do tratamento relativo a 8 L com 918 ovos e juvenis. Contudo, como houve diferença significativa entre a Testemunha e 4 L da mistura, assim como com Aldicarb, essas diferenças podem ser reflexo, não apenas do efeito dos tratamentos, mas também da distribuição irregular do nematóide (Tabela 33).

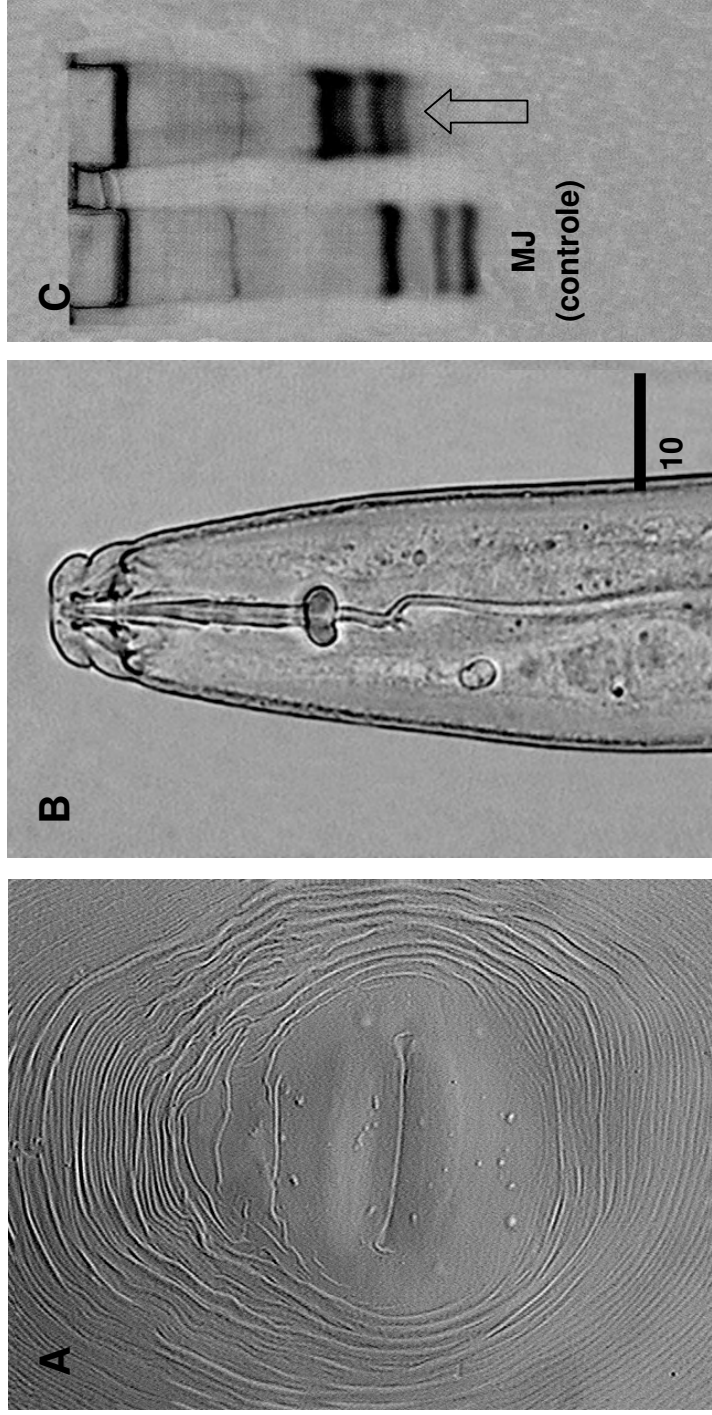


Figura 56. Subpopulação de *Meloidogyne mayaguensis* recuperada de raízes de goiabeira. A) Fotomicrografia do padrão perineal. B) Fotomicrografia da região labial de macho. C) Fenótipo isoenzimático para esterese com duas bandas típicas da espécie (seta). MJ = *Meloidogyne javanica* utilizada como controle.

Tabela 33. Médias, no solo e nas raízes, das populações de nematóides inicial (Pi = antes da aplicação), aos 60 e 120 dias após a aplicação da mistura em partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactylella* sp., Aldicarb e o tratamento-testemunha, em pomar de goiabeira variedade Pedro Sato, com 5 anos, no Município de Monte Azul Paulista – SP.

TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo								
	<i>Meloidogyne mayaguensis</i> (J2)				<i>Helicotylenchus dihystrera</i>				
	Pi	P60	P120	Pi	P60	P120	Pi	P60	P120
TESTEMUNHA	7 b	418 a	428 a	144 a	169 a	263 a			
4 L FUNGOS	37 ab	256 a	80 ab	91 a	151 a	76 a			
8 L FUNGOS	134 a	119 a	115 ab	200 a	248 a	228 a			
Aldicarb 150 g	23 ab	152 a	68 b	272 a	155 a	477 a			
Teste F ¹	3,24 *	0,22 ^{NS}	4,03 *	0,19 ^{NS}	0,60 ^{NS}	1,41 ^{NS}			
dms	1,0747	1,1153	0,6991	1,1406	1,3431	1,3859			
CV (%)	38,86	24,61	16,47	26,97	32,43	32,67			
TRATAMENTO	Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes								
	<i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Ovos e J2)				<i>Helicotylenchus dihystrera</i>				
	Pi	P60	P120	Pi	P60	P120	Pi	P60	P120
TESTEMUNHA	4210 a	11773 a	12670 a	5 a	0 a	101 a			
4 L FUNGOS	5490 a	7620 a	701 b	20 a	0 a	1 a			
8 L FUNGOS	3547 a	14434 a	918 ab	10 a	0 a	1 a			
Aldicarb 150 g	1230 a	12230 a	722 b	2 a	0 a	3 a			
Teste F ¹	1,16 ^{NS}	0,17 ^{NS}	5,42 *	0,10 ^{NS}	-	2,41 ^{NS}			
dms	1,4282	1,5864	1,0892	1,5376	-	1,3280			
CV (%)	20,97	20,21	17,21	182,96	-	121,01			

Pi = população inicial. P60 e 120 = população aos 60 e 120 dias após a aplicação dos tratamentos.

¹ Para a análise estatística, os dados foram transformados em log (x+1).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

* Significativo a 5% de probabilidade e ^{NS} (não significativo).

Aplicando-se os resultados obtidos ao teste de Abbott, segundo NAKANO et al. (1981), obteve-se a percentagem de controle dos tratamentos (eficiência), em relação à testemunha. A análise de variância desses dados e a comparação entre as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, para as populações dos nematóides aos 60 e 120 dias após a aplicação dos tratamentos, não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos (Tabela 34). Entretanto, para a população de juvenis de segundo estágio de *M. mayaguensis* em 100 cm³ das amostras de solo, para os tratamentos com 4 L, 8 L e Aldicarb, aos 60 dias, ocorreu uma percentagem de eficiência de controle de 39; 72 e 64% que, aos 120 dias, foi de 81; 73 e 84%, respectivamente. Em 10 g de raízes, aos 60 dias, foi de 35; -23 e -4% e, aos 120 dias, foi de 95; 93 e 94%. Quanto à população de *H. dihystra*, no solo, para os tratamentos com 4 L, 8 L e Aldicarb, aos 60 dias, houve uma eficiência do tratamento de 11; -47 e 8% e, aos 120 dias, foi de 71; 13 e -81%, respectivamente. Nas raízes, aos 60 dias, para todos os tratamentos, a eficiência foi de 0%, enquanto aos 120 dias, foi de 99; 99 e 97%, respectivamente (Tabela 34).

Os resultados obtidos evidenciam que os tratamentos estão influenciando na dinâmica da população dos nematóides com indícios de que houve benefícios dos tratamentos, especialmente aos 120 dias após a aplicação, tanto no solo quanto nas raízes. Além disso, as amostras de solo coletadas no momento da aplicação dos fungos, aos 60 e 120 dias após a aplicação dos tratamentos, foram plaqueadas conforme descrito no item 3.1., para averiguar se os fungos nematófagos tinham se estabelecido no solo da área experimental. As amostras de solo de cada repetição por tratamento utilizado foram separadamente homogeneizadas e plaqueadas. Para as amostras de solo coletadas no dia da aplicação, não foi encontrado nenhum dos fungos nematófagos nas parcelas que seriam tratadas e não-tratadas. Nas amostras coletadas aos 60 e 120 dias após a aplicação, para as parcelas tratadas com 4 e 8 L da mistura dos fungos nematófagos, verificaram-se muitos nematóides capturados por armadilhas, conidióforos e conídios dos fungos *A. musiformis*, *A. oligospora* e *Dactylella* sp., além

Tabela 34. Média da eficiência (%) dos tratamentos, em relação à Testemunha, no solo e nas raízes, relativa às populações de nematóides, aos 60 e 120 dias após a aplicação da mistura em partes iguais de bagaço de cana colonizado por *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactylella* sp., Aldicarb e o tratamento-testemunha, em pomar de goiabeira variedade Pedro Sato, com 5 anos, no Município de Monte Azul Paulista – SP.

TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 100 cm ³ de solo		
	<i>Meloidogyne mayaguensis</i> (J2)		<i>Helicotylenchus dihystra</i>
	P60	P120	P60
4 L FUNGOS	39 a	81 a	11 a
8 L FUNGOS	72 a	73 a	- 47 a
Aldicarb 150 g	64 a	84 a	8 a
Teste F	1,08 ^{NS}	0,84 ^{NS}	0,29 ^{NS}
dms	64,924	24,607	237,42
CV (%)	56,72	15,67	- 1297,23
			0,82 ^{NS}
			336,15
			16792,46
TRATAMENTO	% Número de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> em 10 g de raízes		
	<i>Meloidogyne mayaguensis</i> (Ovo e J2)		<i>Helicotylenchus dihystra</i>
	P60	P120	P60
4 L FUNGOS	35 a	95 a	0 a
8 L FUNGOS	- 23 a	93 a	0 a
Aldicarb 150 g	- 4 a	94 a	0 a
Teste F	0,33 ^{NS}	0,13 ^{NS}	0,00 ^{NS}
dms	201,79	10,47	0
CV (%)	3487,90	5,65	0
			1,33 ^{NS}
			3,9094
			2,01

P60 e P120 = população aos 60 e 120 dias após a aplicação da mistura dos fungos.

Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos.

da presença de *P. lilacinus*, evidenciando que os fungos se estabeleceram no solo das parcelas tratadas. Nas amostras das parcelas sem tratamento com os fungos (Testemunha) e Aldicarb, não se observou a presença dos fungos nematófagos.

4.16. Teste-Piloto para o Manejo de *Meloidogyne javanica* em Plantio Comercial de Crisântemo de Corte com Fungos Nematófagos em Ambiente Protegido

As espécies *Meloidogyne javanica* (Figura 57) e *Helicotylenchus dihystera* eram os nematóides predominantes nas estufas de produção comercial de crisântemo onde os testes foram desenvolvidos.

O desenvolvimento da cultura estabelecida em canteiros de produção comercial infestados por *Meloidogyne javanica*, em estufas instaladas no Município de Holambra – SP, resulta em plantas cujo ciclo é severamente alterado, inviabilizando a produção comercial da cultura (Figuras 58 A a C).

Mudas de crisântemo de corte com vinte dias de idade, produzidas em substrato constituído de palha de arroz pré-carbonizada (Figura 23 A), enriquecido com uma mistura de partes iguais de uma mistura de arroz colonizado, individualmente, por cinco fungos nematófagos, à razão de 1 L da mistura dos fungos para 100 L do substrato das mudas, foram preparadas em bandejas (Figura 23 B), conforme ilustrado nas Figuras 23 C e D, e foram plantadas em canteiros cuja infestação pelo nematóide no ciclo anterior tinha resultado em severas perdas, como ilustrado na Figura 58. Desde o início do desenvolvimento da cultura até a fase de colheita, as plantas oriundas de mudas tratadas com os fungos tiveram um desenvolvimento considerado satisfatório (Figura 59). Em 59 A, estão plantas exibindo desenvolvimento inicial vigoroso (seta). Na 59 B, estão documentadas plantas com grande quantidade de folhas e uniformidade no crescimento e 59 C corresponde a plantas com hastes maiores, crescimento e florescimento uniformes, evidenciando a eficácia do controle do nematóide.

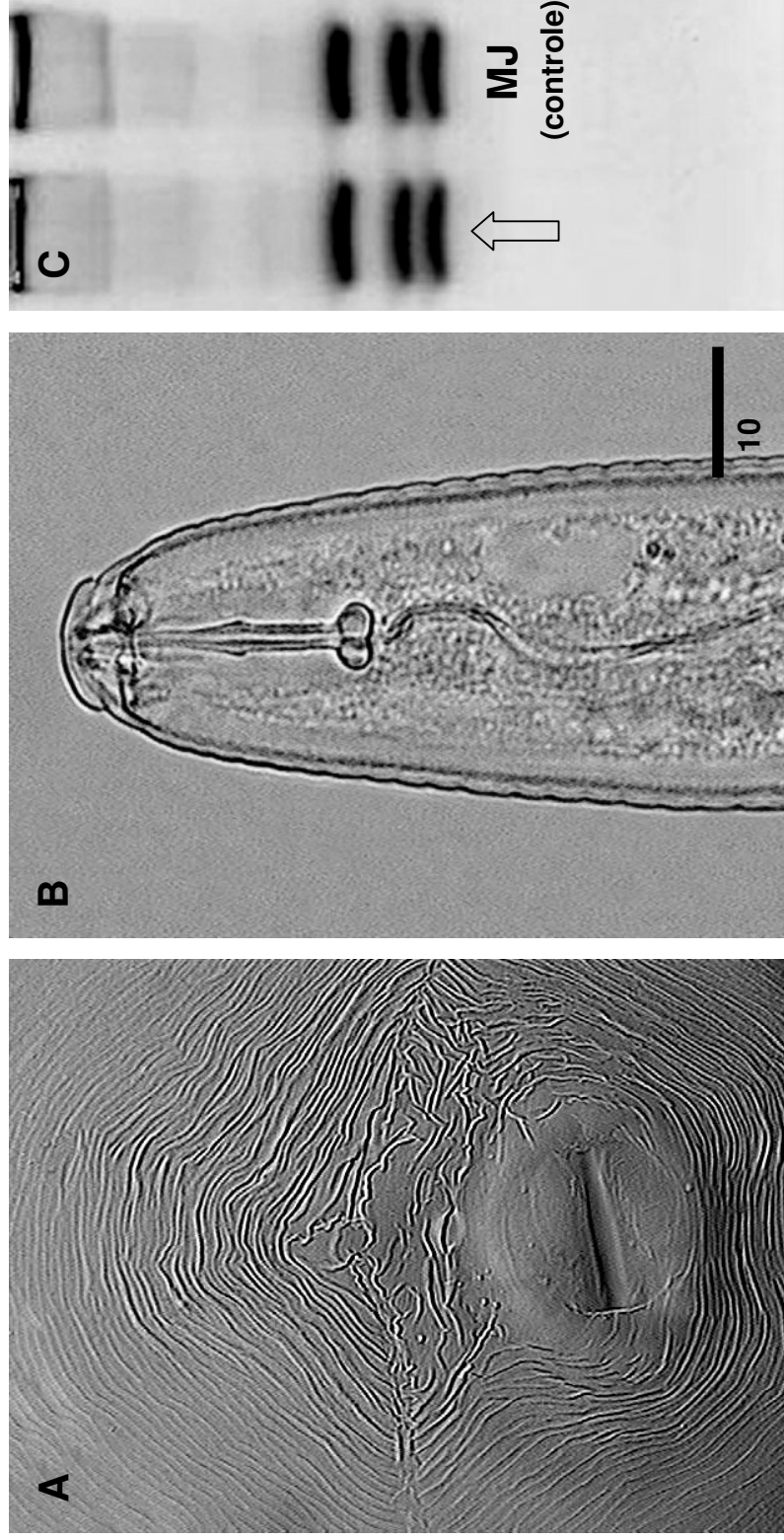


Figura 57. Subpopulação de *Meloidogyne javanica* recuperada de raízes de crisântemo de corte. A) Fotomicrografia do padrão perineal. B) Fotomicrografia da região labial de macho. D) Fenótipo isoenzimático para esterase com três bandas, típico da espécie (seta).



Figura 58. Cultura de crisântemo de corte em estufa com canteiros infestados por *Meloidogyne javanica* apresentando sintomas. A) Plantas apresentando murchamento (seta). B) Plantas com o ciclo alterado como consequência da infecção pelo nematóide. C) Reboleira com plantas apresentando florescimento desuniforme.



Figura 59. Canteiro infestado por *Meloidogyne javanica*, nos quais foram plantadas mudas de crisântemo de corte produzidas em substrato tratado com coquetel de fungos nematófagos. A) Plantas com desenvolvimento vigoroso. B) Plantas com grande quantidade de folhas e uniformidade no crescimento. C) Plantas apresentando uniformidade no florescimento.

Os canteiros implantados com mudas sem o tratamento ou com os fungos nematófagos isolados sofreram severos danos quando comparados às tratadas com o coquetel de fungos nematófagos. O manejo da população desse nematóide foi obtido em escala comercial em plantios de crisântemo de corte em outras estufas infestadas com esse nematóide, confirmando a viabilidade dessa alternativa para o manejo desse nematóide na produção de crisântemo, em ambiente protegido. Os resultados indicam que o coquetel de fungos nematófagos utilizados é uma opção de controle de *M. javanica* em ambiente protegido de crisântemo de corte.

V. CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente estudo dão suporte às seguintes conclusões:

- 1) *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Monacrosporium* spp. são os fungos nematófagos predadores mais abundantes nos solos das regiões pesquisadas.
- 2) *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e outros são de fácil cultivo em meios de cultura elaborados com produtos tais como sementes e grãos ou subprodutos da agroindústria e podem ser fortes aliados no manejo de nematóides em cultivos de hortifrutigranjeiros e de ornamentais.
- 3) Os cultivos em ambientes protegidos são particularmente favoráveis à utilização de formulações de fungos nematófagos, uma vez que tais ambientes potencializam a eficácia dos fungos nematófagos, embora também favoreçam a agressividade dos nematóides.
- 4) A eficácia dos fungos nematófagos é inversamente proporcional à longevidade do ciclo da cultura.
- 5) Culturas de ciclo mais longo demandarão mais de uma aplicação de formulações dos fungos nematófagos, e o monitoramento da população dos nematóides é uma etapa vital para a determinação dos intervalos de aplicação.
- 6) Uma única aplicação de formulações de fungos nematófagos empregando material colonizado pelos fungos pode propiciar o controle de *Meloidogyne incognita* em alface, em cultivo protegido.
- 7) Os fungos nematófagos podem ser acrescentados aos substratos utilizados na produção de mudas de hortaliças e ornamentais, facilitando sua aplicação em ambientes protegidos.

- 8) A utilização de suspensão de conídios dos fungos nematófagos, inclusive com aplicação via irrigação, pode ser uma das alternativas para a aplicação dos fungos nematófagos, desde que feitas em caráter preventivo, antes que os nematóides alcancem níveis de população que comprometam o desenvolvimento da cultura.
- 9) A utilização de formulações dos fungos contendo mais de uma espécie com características especiais de predação, inclusive parasitos de ovos, tem mais chances de sucesso que formulações contendo uma única espécie.
- 10) Os fungos nematófagos exibem apreciável especificidade de hospedeiros, o que dificulta o comércio de formulações, dado o risco de comprometer a credibilidade do produto, se formulações de fungos não-específicos para o nematóide que ocorre em certo local, forem utilizadas.
- 11) As formulações de fungos nematófagos são mais adequadas para a distribuição assistida a produtores de pequenas comunidades ou a empresas específicas, uma vez que, desse modo, é possível identificarem-se, previamente, os nematóides que ocorrem no local, tendo em vista a elaboração de formulações específicas para cada caso.
- 12) Para culturas hortícolas altamente suscetíveis aos nematóides de galha (*Meloidogyne* spp.), tais como alface e quiabo, formulações de fungos predadores, incluindo, também, um parasito de ovos, podem exercer o controle dos nematóides.
- 13) Os fungos nematófagos podem ser formulados em bagaço de cana misturado com farelo de arroz na proporção de 2:1, previamente esterilizado, quer por autoclavagem, quer por irradiação.
- 14) As formulações se mostraram viáveis e de fácil manipulação para serem empregadas pelos produtores.
- 15) A utilização de formulações de fungos nematófagos pode vir a ser o recurso mais adequado para o manejo de nematóides em hortaliças produzidas em volta dos centros urbanos, assim como em parques e jardins.

VI. REFERÊNCIAS

AHMAD, S. F.; KHAN, T. A. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, by integration of *Paecilomyces lilacinus* with organic materials in Chilli. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, London, v. 37, p. 35-40, 2004.

AL-HAZMI, A. S.; IBRAHIM, A. A. M.; ABDUL-RAZIQ, A. T. Evaluation of a nematode-encapsulating fungi complex for control of *Meloidogyne javanica* on potato. **Pakistan Journal of Nematology**, Islamabad, v. 11, p. 139-149, 1993.

ALCÂNTARA, V. S. B; AZEVEDO, J. L. de. Isolamento e seleção de fungos predadores de nematóide. **Revista de Agricultura**, Paracicaba, v. 56, p. 132-146, 1981.

ANKE, H.; STADLER, M.; MAYER, A.; STERNER, O. Secondary metabolites with nematocidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 73, p. 932-939, 1995.

ANKE, H.; STERNER, O. Nematicidal metabolites from higher fungi. **Current Organic Chemistry**, Cambridge, v. 1, p. 361-374, 1997.

ASCHNER, M.; KOHN, S. The biology of *Harposporium anguillulae*. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v. 19, p. 182-189, 1958.

ATKINS, S. D.; HIDALGO-DIAZ, L.; KALISZ, H.; MAUCLINE, T. H.; HIRSCH, P. R.; KERRY, B. R. Development of a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. **Pest Management Science**, Brighton, v. 59, p. 183-189, 2003.

BAERMANN, G. Eine einfache Methode Zur Auffindung von Ankvlostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. **Tijdschr. Ned., Indie**, Osiris, v. 57, p. 131-137, 1917.

BALAN, J.; GERBER, N. Attraction and killing of the nematode *panagrellus redivivus* by the predacious fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Nematology**, Leiden, v. 18, p. 163-173, 1972.

BARBOSA, J. C. **Métodos estatísticos aplicados à entomologia**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, Departamento de Ciências Exatas. 2001. 250 p.

BARKER, K. R. Nematode extraction and bioassays. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (ed.) **An advanced treatise on Meloidogyne, v. II: methodology**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 19-35.

BARKER, K. R.; PEDERSON, A. G.; WINDHAM, L. G. (Ed.). **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998. 772 p.

BARKER, K. R.; SCHMITT, D. P.; IMBRIANI, J. L. Nematode population dynamics with emphasis on determining damage potential to crops. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (ed.) **An advanced treatise on Meloidogyne, v. II: methodology**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 136-148.

BARRON, G. L. **The nematode-destroying fungi**. Ghelph: Canadian Biological Publications Ltda., 1977, 140 p.

BARRON, G. L.; THORN, R. G. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus* **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 65, p. 774-778, 1987.

BERNARDO, E. R. A. **Eficácia do controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira, 1940) em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) com fungos nematófagos.** 2002. 74 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2002.

BLACKBURN, F.; HAYES, W. A. Studies on the nutrition of *Arthrobotrys oligospora* Fres. and *Arthrobotrys robusta* Dudd. I. The saprophytic phase. **Annals of Applied Biology**, Harpenden, v. 58, p. 43-50, 1966.

BLACKBURN, K.; ALM, S. R.; YEH, T. S. Avermectin B, isazofos, and fenamiphosforcontrol of *Hoplolaimus galeatus* and *Tylenchorhynchus dubius* infesting *Poa annua*. **Supplement Journal of Nematology**, Hanover, v. 28, p. 687-694, 1996.

BONANTS, P. J. M.; FITTERS, P. F. L.; DEN BELDER, E.; WAALWIJIK, C.; HENFLING, J. W. D. M. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. **Microbiology**, Dublin, v. 141, p. 775-784, 1995.

BORREBAECK, C. A.; MATIASSON, B.; NORDBRING-HERTZ, B. A fungal lectin and its apparent receptors on a nematode surface. **FEMS Microbiology Letters**, Bucksburn, v. 27, p. 35-39, 1985.

BORREBAECK, C. A.; MATIASSON, B.; NORDBRING-HERTZ, B. Isolation and partial characterization of a carbohydrate-binding protein from a nematode-trapping fungus. **Journal of Bacteriology**, Illinois, v. 159, p. 53-56, 1984.

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P. Efeito da época e forma de aplicação dos fungos *Arthrobotrys conoides*, *Arthrobotrys musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* no controle de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 22, p. 261-265, 1997.

CAMPOS, V. P. Perspectivas do controle biológico de fitonematóides. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, p. 26-30, 1992.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Encapsulação do fungo *Paecilomyces lilacinus* em matrizes de alginato-argila e avaliação da viabilidade dos conídios em duas temperaturas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, p. 91, 1997.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Metodologia e testes de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 17, p. 66-75, 1993.

CARNEIRO, R. M. D. G.; KULCZYNSKI, S. M. Metodologia de produção de conídios para diferentes isolados de *Paecilomyces* spp. em arroz. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 17, p. 98-101, 1993.

CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 223-228, 2001.

CASTRO, J. M. C.; LIMA, R. D. de; FERRAZ, S.; NEVES, J. C. L. Capacidade de predação de *Arthrobotrys musiformis* a fitonematóides. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, p. 58-62, 2000.

CAYROL, J. C.; FRANKOWSKI, J. P.; LANIECE, A.; d'HARDEMARE, G.; TALON, J. P. Contre les nématodes en champignonnière. Mise au point d'une méthode de lutte biologique a l'aide d'un hyphomycete prédateur: *Arthrobotrys robustus* souche antipolis (Royal 300). **Revue Horticulture**, Paris, v. 184, p. 23-30, 1978.

CAYROL, J. C.; FRANKOWSKI, J. P. Une méthode de lutte biologique contre les nématodes à galles des racines appartenant au genre *Meloidogyne*. **Revue Horticulture**, Paris, v. 193, p. 15-23, 1979.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Viability of *Heterodera glycines* exposed to fungal filtrates. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 32, p. 190-197, 2000.

CLARK, F. E.; PAUL, E. A. The microflora of grassland. **Advances in Agronomy**, New York, v. 22, p. 375-435, 1970.

COIMBRA, J. L.; CAMPOS, V.; SOUZA, R. de. Isolamento e parasitismo de fungos de fêmeas de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 25-33, 1999.

COOKE, R. C. Ecological characteristics of nematode-trapping Hyphomycetes. I. Preliminary studies. **Annual of Applied Biology**, London, v. 52, p. 431-437, 1963.

COOKE, R. C. Ecological characteristics of nematode-trapping Hyphomycetes. II. Germination of conidia in soil. **Annual of Applied Biology**, London, v. 54, p. 375-379, 1964.

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

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 2002. 44 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2002.

COSTA, M. J. N. **Filtrados de culturas fúngicas e esterco animais, com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**. 2000. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; PFENNING, L. H.; OLIVEIRA, D. F. Filtrados de culturas fúngicas com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 23, 2000, Belém, **Resumos...** Fortaleza: SBF, 2000. p. 335-336.

CRUMP, D. H.; SAYRE, R. M.; YOUNG, L. D. Occurrence of nematophagous fungi in cyst nematode populations. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, p. 63-64, 1983.

D'ANGIERI FILHO, C.; CAMPOS, V. P. Controle de *Meloidogyne javanica* em jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) com *Arthrobotrys conoides*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, p. 23-29, 1997.

DACKMAN, C.; OLSSON, S.; JANSSON H. B.; LUNDGREN, B.; NORDBRING HERTZ, B. Quantification of predatory and endoparasitic nematophagous fungi in soil. **Microbial Ecology**, New York, v. 13, p. 89-93, 1987.

DALLA PRIA, M. **Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* Raça 3, pelos fungos *Verticillium chlamyosporium* e espécies de *Monacrosporium* isolados ou combinados.** 1992. 101 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.

DALLA PRIA, M.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. J. Isolamento e identificação de fungos nematófagos de amostras de solo de diversas regiões do Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 15, p. 171-178, 1991.

DAVIDE, R. G.; HAHN, S. K.; CAVENESS, F. E. Biological control of nematodes using *Paecilomyces lilacinus* in the Philippines. Integrated pest management for tropical root and tuber crops. In: THE GLOBAL STATUS OF AND PROSPECTS FOR INTEGRATED PEST MANAGEMENT OF ROOT AND TUBER CROPS IN THE TROPICS, 1987, Ibadan, Nigeria. **Proceedings...** Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture, 1990. p. 156-163.

DELEIJ, F. A. A. M.; DENNEHY, J. A.; KERRY, B. R. Effect of watering on the distribution of *Verticillium chlamyosporium* in soil and the colonisation of eggs masses of *Meloidogyne incognita* by the fungus. **Nematologica**, Leithen, v. 39, p. 250-265, 1993.

DIAS, W. P.; FERRAZ, S. Crescimento e esporulação de *Arthrobotrys* spp. em diferentes substratos, meios de cultura, pH e níveis de temperatura. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 17, p. 168-181, 1993.

DIJKSTERHUIS, J.; VEENHUIS, M.; HARDER, W. Ultrastructural study of adhesion and initial stages of infection of nematodes by conidia of *Drechmeria coniospora*. **Mycological Research**, Madri, v. 94, p. 1-8, 1990.

DIJKSTERHUIS, J.; VEENHUIS, M.; HARDER, W.; NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagous fungi: physiological aspects and structure-function relationships. **Advances in Microbial Physiology**, San Diego, v. 36, p. 111-143, 1994.

DIJKSTERHUIS, J.; WYSS, U.; VEENHUIS, M.; HARDER, W. Colonization and digestion of nematodes by the endoparasitic nematophagous fungus *Drechmeria coniospora*. **Mycological Research**, Madri, v. 95, p. 873-878, 1991.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of Soil Fungi I**. London: Academic Press, 1980. 1.264 p.

DRECHSLER, C. Some clampless hyphomycetes predacious on nematode and rhizopods. **Annual Mycology**, Edinburg, v. 15, p. 9-25, 1961.

DRECHSLER, C. Some Hyphomycetes that prey on free-living terricolous nematodes. **Mycology**, Adelaide, v. 29, p. 447-552, 1937.

DUDDINGTON, C. L. Fungi that attack microscopic animals. **Botanical Review**, Adelaide, v. 21, p. 377-439, 1955.

EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H.; SASSER, J. N.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. **A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) with a pictorial key**. Raleigh: The Departments of Plant Pathology and Genetics of North Carolina State University and United States Agency for International Development, 1981. 48 p.

ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 22, n. 1, p. 10-15, 1990.

ESCOBAR, H. Orgânicos saudáveis e cada vez mais acessíveis. **O Estado de São Paulo**, 10 de novembro de 2002.

ESSER, R. P.; EL-GHOLL, N. E. *Paecilomyces lilacinus*, a fungus that parasitizes nematode eggs. Fla. Dept. Agriculture & Consumer Service (Nematology Circular, 203). 3 p. 1993.

FAPESP. Combate natural na terra cultivada. **Pesquisa FAPESP**, v. 78, p. 72-74, 2002.

FATTAH, F. A. Chitinolytic activity of fungi associated with females and eggs of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. **Journal of Agriculture and Water Resources Research, Plant Production**, Iraq, v. 7, p. 1-9, 1988.

FERRAZ, S.; DIAS, C. R.; FREITAS, L. G. de. Controle de nematóides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado Fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: UFV, 2001, p. 1-53.

FITTERS, P. F. L.; BELDER, E.; BELDER, E. D. DEN. A time lapse technique to study the effect of fungal products on embryogenesis of nematode eggs. **Medelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen**, Rijksuniversiteit Gent., v. 58, p. 751-756, 1993.

FREIRE, F. C. O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, p. 577-596, 1985.

GASPARD, J. T.; MANKAU, R. Density-dependence and host-specificity of the nematode trapping fungus *Monacrosporium ellipsosporum*. **Revue de Nématologie**, Paris, v. 10, p. 241-246, 1987.

GOELDI, E. A. Relatório sobre a moléstia do cafeeiro na província do Rio de Janeiro. **Arquivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 8, p. 15-121, 1892.

GOETTEL, M. S.; HAJEK, A. E.; SIEGEL, J. P.; EVANS, H. C. Safety of fungal biocontrol agents. In: BUTT, T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. **Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential**. United Kingdom: CABI Publishing, 2001, cap. 13, p. 347-376.

GRAY, N. F. Ecology of nematophagous fungi: distribution and habitat. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 102, p. 501-509, 1983.

GRAY, N. F. Ecology of nematophagous fungi: effect of soil moisture, organic matter, distribution. **Soil Biology and Biochemistry**, United Kingdom, v. 17, p. 499-507, 1985.

GRAY, N. F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: POINAR JUNIOR, G. O.; JANSSON, H. G. **Disease of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, 1988, v. 2, p. 3-38.

GRAY, N. F. Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. **Biological Review**, Cambridge, v. 62, p. 245-304, 1987.

GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology** (1nd Edition). New York: Wiley Science Paperback Series, 1994. 458 p.

GUIMARÃES, L. M.; MOURA, R. M.; PEDROSA E. M. R. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. **Nematologia Brasileira**, v. 27, p. 139-145, 2003.

HAARD, K. Taxonomic studies on the genus *Arthrobotrys* Corda. **Mycologia**, Stanford, v. 2, p. 1140-1159, 1968.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 57, p. 1.025-1.028, 1973.

HALLMAN, J.; SIKORA, R. A. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soil borne plant pathogenic fungi. **European Journal of Plant Pathology**, Ireland, v. 102, p. 155-162, 1996.

HUTCHISON, L. J.; MADZIA, S. E.; BARRON, G. L. The presence and antifeedant function of toxin producing secretory cells on hyphae of the lawn-inhabiting agaric *Conocybe lactea*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 74, p. 431-434, 1996.

JACOBS, P. Nematophagous fungi: guide. Disponível em: <<http://www.biological-research.com/philip-jacobs%20BRIC/ar-dact.htm>>. Acesso em: 14-11-2006.

JACOBS, H.; GRAY, S. N.; CRUMP, D. H. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. **Mycological Research**, Amsterdam, v. 107, p. 47-56, 2003.

JANSSON, H. B. Predacity of nematophagous fungi and its relationship to the attraction of nematodes. **Microbial Ecology**, New York, v. 8, p. 233-240, 1982a.

JANSSON, H. B. Attraction of nematodes to endoparasitic nematophagous fungi. **Trans. British Mycology Society**, United Kingdom, v. 79, p. 25-29, 1982b.

JANSSON, H. B.; HOFSTEN, A. VON; MECKLENBURG, C. VON. Life cycle of the endoparasitic nematophagous fungus *Meria coniospora*: a light and electron microscopic study. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 50, p. 321-327, 1984.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Attraction of nematodes to living mycelium of nematophagous fungi. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v. 112, p. 89-93, 1979.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Interactions between nematophagous fungi and plant-parasitic nematodes attraction, induction of trap formation and capture. **Nematologica**, Leithen, v. 26, p. 383-389, 1980.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Involvement of sialic acid in nematode chemotaxis and infection by an endoparasitic nematophagous fungus. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v. 130, p. 39-43, 1984.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. The endoparasitic nematophagous fungus *Meria coniospora* infects nematodes specifically at the chemosensory organs. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v. 129, p. 1.121-1.126, 1983.

JANSSON, H. B.; TUNLIB, A.; NORDBRING-HERTZ, B. Biological control: Nematodes. In: ANKE, T. Ed. **Fungal Biotechnology**. Weinheim: Chapman and Hall, 1997. p. 38-50.

JATALA, P. **Biological control of nematodes.** In: SASSER, J. N.; CARTER, E. C. (Ed.) An advanced treatise on Meloidogyne. North Carolina: North Carolina State University, 1985. p. 303-308.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 453-489, 1986.

JATALA, P.; KAELTENBACH, M.; BOCANGEL, D. A. J.. Field application of *Paecilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v. 12, p. 226-227, 1980. Abstract.

JATALA, P.; SALAS, R.; BOCANGEL, M. Multiple application and long-term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field condition. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v. 13, p. 445, 1981.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 48, p. 692-695, 1964.

KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 22, p. 621-631, 1990.

KERRY, B. R. **Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes.** In: WHIPPS, J. M.; LUMSDEN, R. D. (Ed.). Biotechnology of fungi for improving plant growth. Cambridge, Cambridge University Press, 1989. p. 153-170,

KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Parasitic fungi, soil moisture and multiplication of the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. **Nematologica**, Leithen, v. 26, p. 57-68, 1980.

KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae* under continuous cereals, 1975-1978. II. Fungal parasitism of nematode eggs and females. **Annals of Applied Biology**, Camberra, v. 100, p. 489-499, 1982.

KERRY, B. R.; SIMONN, A.; ROVIRA, A. D. Observations on the introduction of *Verticillium chlamydosporium* and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*. **Annals of Applied Biology**, London, v. 105, p. 509-516, 1984.

KERRY, B. R. Sustainable management of root-knot nematodes in intensive vegetable production in tropical soils requires local capacity building. **8th Conference of the European Foundation for Plant Pathology & British Society for Plant Pathology Presidential Meeting 2006**, Denmark, p. 62, 2006.

LIMA, R. D. de. **Caracterização de isolados e avaliação da patogenicidade de *Arthrobotrys* spp. a fitonematóides**. 1996. 88 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

LIMA, I. M.; DOLINSKI, C.; SOUZA, R. M. Dispersão de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabais de São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros dentre plantas invasoras e cultivadas. **Nematologia Brasileira**, v. 27, p. 257-258, 2003. Resumo.

LIU, X. Z.; ZHANG, K. Q. Nematode-trapping species of *Monacrosporium* with special reference to two new species. **Mycological Research**, Madrid, v. 98, p. 862-868, 1994.

LYSEK, G.; NORDBRING-HERTZ, B. An endogenous rhythm of trap formation in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Planta**, Bonn, v. 152, p. 50-53, 1981.

MACHADO, V. O. F.; CAMPOS, V. P. Cultivo de fungos antagonistas em diferentes substratos e avaliação da eficiência no controle de *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 387-391, 1997.

MAIA, A. S. **Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines***. 2000. 117 f. Tese (Doutorado Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

MAIA, A. S.; SANTOS, J. M. dos; DI MAURO, A. O. Estudo in vitro da habilidade predatória de *Monacrosporium robustum* sobre *Heterodera glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 732-736, 2001.

MANKAU, R. Biological control of nematode pests by natural enemies. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 18, p. 415-440, 1980a.

MANKAU, R. Biocontrol: fungi as nematode control agents. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v. 12, p. 244-252, 1980b.

MANKAU, R.; WU, X. Effects of nematode-trapping fungus *Monacrosporium ellipsosporum* on *Meloidogyne incognita* populations in filed soil. **Revue de Nématologie**, Paris, v. 8, p. 147-153, 1985.

MARANHÃO, S. R. **Reação de indivíduos segregantes de goiabeira e araçazeiro a *Meloidogyne* spp. e caracterização de populações atípicas do nematóide**. 2001. 96 f. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2001.

MATSKIEVICH, N. V. Predatory fungus as a pesticidal agent. **Zashchita Rastenii**, Moskva, v. 4, p. 43, 1993.

MAYER, A.; STERNER, O.; ANKE, H. Screening of higher fungi for the production of nematicidal compounds using *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood as test organism. **Med. Fac. Landboww. Univ. Gent.**, Bélgica, v. 61. p. 839-947, 1996.

McCULLOCH, J. S. New species of nematophagous fungi from Queensland. **Transactions of the British Micological Society**, Jordans Town, v. 68, p. 173-179, 1977.

MEDEIROS, J. E.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Novas plantas hospedeiras de *Meloidogyne mayaguensis*. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURALDE PERNAMBUCO, 3, 2003, Recife, **Anais...** Recife: UFRPE, 2003. CD ROM.

MENNAN, S.; CHEN, S.; MELAKEBERHAN, H. Suppression of *Meloidogyne hapla* populations by *Hirsutella minnesotensis*. **Biocontrol Science and Technology**, Lethbridge, v. 16, p. 181-193, 2006.

MEYER, S. L. F.; HUETTEL, R. N.; LIU, X. Z.; HUMBER, R. A.; JUBA, J.; NITAO, J. K. Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile motility. **Nematology**, Leiden, v. 6, p. 23-32, 2004.

MORGAN-JONES, G.; RODRÍGUEZ-KABANA, R. Fungal biocontrol for the management of nematodes. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Eds.). **Vistas on Nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists Inc., 1987. p. 94-99.

MORGAN-JONES, G.; WHITE, J. F.; RODRÍGUEZ-KABANA, R. Phytonematode pathology: ultrastructural studies. I. Parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs by *Verticillium chlamydosporium*. **Nematropica**, Auburn, v. 13, p. 245-260, 1983.

NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R. A. **Entomologia econômica**. Piracicaba: Livroceres, 1981. 314 p.

NAVES, R. L.; CAMPOS, V. P. Ocorrência de fungos predadores de nematóides no sul de Minas Gerais e estudos da capacidade predatória in vitro de alguns de seus isolados. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 15, p. 152-162, 1991.

NITAO, J. K.; MEYER, S. L. F.; CHITWOOD, D. J. In vitro assays of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* for detection of nematode-antagonistic fungal compounds. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 31, p. 172-183, 1999.

NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagous fungi: Strategies for nematode exploitation and for survival. **Microbiological Sciences**, Bangor, v. 5, p. 108-116, 1988.

NORDBRING-HERTZ, B. Peptide-induced morphogenesis in the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Physiologia Plantarum**, Frederiksberg, v. 29, p. 223-233, 1973.

NORDBRING-HERTZ, B. Scanning electron microscopy of the nematode-trapping organs in *Arthrobotrys oligospora*. **Physiologia Plantarum**, Frederiksberg, v. 26, p. 279-284, 1972.

NORDBRING-HERTZ, B.; MATIASSON, B. Action of the nematode-trapping fungus shows letin-mediated host-microorganism interaction. **Nature**, London, v. 281, p. 477-479, 1979.

NOVARETTI, W. R. T. **Controle biológico de nematóides fitopatogênicos**. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1986, Campinas. **Anais...** Piracicaba: Fundação Cargill, 1986. p. 24-38.

OLTHOF, H. A.; ESTEY, R. H. Relation of some environmental factors to growth of several nematophagous hyphomycetes. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 11, p. 939-946, 1965.

PADILHA, T.; SAMUEL, C. A. **Fungos nematófagos na redução da disponibilidade de larvas infectantes de nematóides trichostrongilídeos**. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. (Ed.). **Controle Biológico**. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 127-144.

PERSMARK, L.; MONDOZA, N. M.; JANSSON, H. B. Nematophagous fungi from agricultural soils of Central America. **Nematropica**, Auburn, v. 25, p. 117-124, 1995.

PETERSON, E. A.; KATZNELSON, H. Studies on the relationship between nematodes and other soil microorganisms. IV. Incidence of nematode-trapping fungi in the vicinity of plant roots. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 11, p. 491-495, 1965.

POINAR JR, G. O.; JANSSON, H. ed. **Diseases of nematodes**. v. 1. Boca Raton: CRC Press, 149 p.,1988a.

POINAR JR, G. O.; JANSSON, H. ed. **Diseases of nematodes**. v. 2. Boca Raton: CRC Press, 139 p.,1988b.

QADRI, A. N. **Fungi associated with sugarbeet cyst nematode in Jerash**, Jordan. M.Sc. Thesis, Univ. Jordan, 1989.

RIBEIRO, R. C. F.; CAMPOS, V. P. Controle de *Meloidogyne javanica* com fungos parasitas de ovos. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 17, p. 193-202, 1993.

RIBEIRO, R. C. F.; FERRAZ, S.; MIZOBUTSI, E. H.; MENDES, M. Levantamento de espécies de *Monacrosporium* predadoras de nematóides em diversas regiões brasileiras. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 41-47, 1999.

RIBEIRO, R. C. F.; RODRIGUES, T. T. M. S.; XAVIER, A. A.; GOMES, L. I. S. Ocorrência de fungos predadores de nematóides sob solos de bananais, no norte de Minas Gerais. **Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 5, p. 1-8, 2003.

RIFFLE, J. W. Effect of an *Aphelenchoides* species on growth of a mycorrhizal and a pseudomycorrhizal fungus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 57, p. 541-544, 1967.

RIFFLE, J. W. Micorrhizae. Proceedings, **1^o North American Conference on Mycorrhizae**. Washington, D.C.: USDA Forest Service Misc. Publ. 1189. 1971. p. 97-113.

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**, DeLeon Springs, v. 27, p. 127-180, 1997.

ROSÉN, S.; EK, B.; RASK, L.; TUNLID, A. Purification and characterization of a surface lectin from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v. 138, p. 2.663-2.672, 1992.

ROSENZWEIG, W. D.; ACKROYD, D. Binding characteristics of lectins involved in the trapping of nematodes by fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 46, p. 1.093-1.096, 1983.

RUBNER, A. Revision of predacious Hyphomycetes in the *Dactylella – Monacrosporium* complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 39, p. 1-134, 1996.

SAIFULLAH, N. Nematicidal and nematostatic effect of cell-free culture filtrates of *Verticillium chlamydosporium* Goddard in vitro. **Afro Asian Journal of Nematology**, United Kingdom, v. 6, p. 32-35, 1996.

SAIKAWA, M. An electron microscope study of *Meria coniospora*, an endozoic nematophagous Hyphomycete. **Canadian Journal of Botany**, Guelph, v. 60, p. 2.019-2.023, 1982.

SANTOS, J. M. dos; CAMPOS, A. S. de; AGUILAR-VILDOSO, C. I. Nematóides dos citros. In: MATTOS JUNIOR, D. de; NEGRI, J. D. de; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. p. 607-628.

SANTOS, M. A. **Detecção, isolamento e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos brasileiros**. 1991. 97 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

SANTOS, M. A. **Estudo de alguns fungos endoparasitos e predadores no controle de fitonematóides**. 1996. 166 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. Avaliação in vitro do parasitismo de fungos nematófagos em *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 18. **Anais...** Campinas, p. 16, 1994a.

SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. Avaliação in vitro do parasitismo de fungos nematófagos em *Pratylenchus brachyurus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 27. **Anais...** Itajai, p. 324, 1994b.

SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. Detecção, isolamentos e preservação de alguns fungos endoparasitos de nematóides e avaliação in vitro de sua patogenicidade. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 183-191, 2000.

SANTOS, M. A.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. J. Evaluation of 20 species of fungi from Brazil for biocontrol of *Meloidogyne incognita* race 3. **Nematropica**, Auburn, v. 22, p. 183-192, 1992.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: The role of society. In: VEECH, A. J.; DICKSON, W. D. **Vistas on Nematology**. DeLeon Springs, FL: Society of Nematologists Inc., 1987. p. 7-14.

SIDDIQUI, M. R. *Helicotylenchus dihystera*. St. Albans: C.I.H. **Descriptions of plant-parasitic nematodes**, Set. 1, n. 9, 1972.

SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. **Bioresource Technology**, College Station, v. 58, p. 229-239, 1996.

SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Some observations on the management of the wilt disease complex of pigeonpea by treatment with vesicular arbuscular fungus and biocontrol agents for nematodes. **Bioresource Technology**, College Station, v. 54, p. 227-230, 1995.

SINGH, K. P.; STEPHEN, R. A.; VAISH, S. S. Pathogenicity and development of *Catenaria anguillulae* on some nematodes. **Mycological Research**, London, v. 100, p. 1.204-1.206, 1996.

SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; SANTOS, J. M. dos.; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* no cultivo de alface em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba, **Resumos...**Piracicaba: SBN, 2005a. p. 67.

SOARES, P. L. M.; FERRAZ, M. P. S.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; BRAZ, L. T.; SANTOS, J. M. dos; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* na produção comercial de pimentão em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba, **Resumos...**Piracicaba: SBN, 2005b. p. 68.

SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M. dos. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* em crisântemo de corte em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 15, 2005, Fortaleza, **Resumos...**Fortaleza: ABH, 2005. p. 531.

SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M. dos. **Utilização de fungos nematófagos no controle biológico de fitonematóides.** In: BORTOLI, S.A. de; BOIÇA JÚNIOR, A.L.; OLIVEIRA, J.E. de M. Agentes de controle biológico: metodologia de criação, multiplicação e uso. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 1-59.

SOUTHEY, J. F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.** (5 ed). London: Minist. Agric. Fisch. Fd., 1970. 148 p. (Bulletin 2)

STADLER, M.; ANKE, H.; STERNER, O. Linoleic-acid. The nematocidal principle of several nematophagous fungi and its production in trap-forming submerged cultures. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 160, p. 401-405, 1993.

STIRLING, G. R. **Biological Control of Plant Parasitic Nematodes**. Progress, Problems and Prospects. UK: CAB International, Wallingford, 1991. 282 p.

STIRLING, G. R.; MANI, A. The activity of nematode trapping fungi following their encapsulation in alginate. **Nematologica**, Leithen, v. 41, p. 240-250, 1995.

TAYLOR, A. L.; NETSCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematologica**, Leiden, v. 20, p. 268-269, 1974.

TEDFORD, E. C.; JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E. Effect of temperature on infection of the cyst nematode *Heterodera schachtii* by the nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v. 66, p. 6-10, 1995.

TEDFORD, E. C.; JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E. Variability among isolates of nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. **Mycological Research**, Madri, v. 98, p. 1.127-1.136, 1994.

TEDFORD, E. C.; JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E.; ANDERSON, C. E.; WESTERDAH, B. B. Parasitism of *Heterodera schachtii* and *Meloidogyne javanica* by *Hirsutella rhossiliensis* in microplots over two growing seasons. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 25, p. 427-433, 1993.

TIMPER, P.; BRODIE, B. B. Effect of *Hirsutella rhossiliensis* on infection of potato by *Pratylenchus penetrans*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 26, p. 304-307, 1994.

TIMPER, P.; RIGGS, R. D.; CRIPPEN, D. L. Parasitism of secondary stages of *Heterodera glycines* by isolates of a sterile nematophagous fungus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, p. 1.193-1.199, 1999.

TORRES, G. R. C.; COVELLO, V. N.; SALES JÚNIOR, R.; PEDROSA, E. M. R.; MOURA, R. M. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29. p. 570, 2004.

TORRES, G. R. C.; SALES JÚNIOR, R.; REHN, V. N. C.; PEDROSA, E. M. R.; MOURA, R. M. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 105-107, 2005.

TOWNSHEND, J. L.; MESKINE, M.; BARRON, C. L. Biological control of *Meloidogyne hapla* on alfafa and tomato with the fungus *Meria coniospora*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 21, p. 179-183, 1989.

TUNLID, A.; JANSSON, S. Proteases and their involvement in the infection and immobilization of nematodes by the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, p. 2.868-2.872, 1991.

TUNLID, A.; JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Fungal attachment to nematodes. **Mycological Research**, Madri, v. 96, p. 401-412, 1992a.

TUNLID, A.; ROSÉN, S.; NORDBRING-HERTZ, B. Molecular mechanisms of adhesion in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Journal of Mycology Medicine**, v. 2, p. 36-42, 1992b.

VAISH, S. S.; SINGH, K. P. Distribution of *Catenaria anguillulae* Sorokin, a facultative endoparasite of nematodes in soils from different locations of India. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Netherlands, v. 18, p. 65-67, 2002.

VAN GUNDY, S. D. Biological control of nematodes: status and prospects in agricultural IPM Systems. In: HOY, M. A.; HERZOG, D. C. (Eds.). **Biological control in agricultural IPM systems**. New York: Academic Press, 1985. p. 467-478.

VAN OORSCHOT, C. A. N. Taxonomy of *Dactylaria complex*, V. A review of *Arthrobotrys* and allied genera. **Studies in Mycology**, Baarn, v. 26, p. 61-96, 1985.

VECCHIA, P. T. D.; KOCH, P. S. História e perspectivas da produção de hortaliças em ambiente protegido no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 20, p. 5-10, 1999.

VEENHUIS, M.; HARDER, W.; NORDBRING-HERTZ, B. Occurrence and metabolic significance of microbodies in trophic hyphae of the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 56, p. 241-249, 1989.

VELVIS, H.; KAMP, P. Suppression of potato cyst nematode root penetration by the endoparasitic nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 102, p. 115-122, 1996.

VILLANUEVA, L. M.; DAVIDE, R. G. Effects of fungicides, nematicides and herbicides on the growth of nematophagous fungi *Paecilomyces lilacinus* and *Arthrobotrys cladodes*. **Phil. Phytopathology**, v. 19, p. 24-27, 1983.

WALTERS, S. A.; BARKER, K. R. Comparison of two inoculum preparation methods for *Rotylenchulus reniformis*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 25, n. 4S, p. 778-784, 1993.

WANG, K.; RIGGS, R. D.; CRIPPEN, D. Decomposition of plant debris by the nematophagous fungus ARF. **Journal of Nematology**, Lake Alfred, v. 36, p. 263-266, 2004.

WARRIOR, P.; REHBERGER, L. A.; BEACH, M.; GRAU, P. A.; KIRFMAN, G. W.; CONLEY, J. M. Commercial development and introduction of DiTera™, a new nematicide. **Pest Management Science**, Brighton, v. 55, p. 376-379, 1999.

WIMBLE, D. B.; YOUNG, T. W. K. Ultrastructure of the infection of nematodes by *Dactylella lysipaga*. **Nova Hedwigia**, Stuttgart, v. 40, p. 9-29, 1984.