

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARLON HENRIQUE HAHN

**LEVANTAMENTO BIBLIOMÉTRICO DOS ESTUDOS COM FUNGOS
NEMATÓFAGOS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne* spp. E POTENCIAL DE
COGUMELOS NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica***

CURITIBA

2017

MARLON HENRIQUE HAHN

**LEVANTAMENTO BIBLIOMÉTRICO DOS ESTUDOS COM FUNGOS
NEMATÓFAGOS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne* spp. E POTENCIAL DE
COGUMELOS NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Agronomia, Área de Concentração em
Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e
Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias,
Universidade Federal do Paraná, como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte
Co-orientadora: Prof^a Dra. Louise Larissa May De Mio
Co-orientador: Prof^o Dr. Odair José Kuhn
Co-orientador: Prof^o Dr. José Renato Stangarlin

CURITIBA

2017

H148 Hahn, Marlon Henrique

Levantamento bibliométrico dos estudos com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp. e potencial de cogumelos no controle de *Meloidogyne javanica* / Marlon Henrique Hahn.

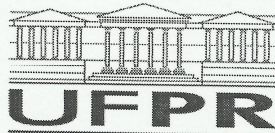
Curitiba: 2017.

96 f.; il.

Orientador: Henrique da Silva Silveira Duarte
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Agronomia – Produção Vegetal.

1. Nematóide – Controle biológico. 2. Fitopatologia. 3. Fungos nematófagos. I. Duarte, Henrique da Silva Silveira. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós – Graduação em Agronomia – Produção Vegetal. III. Título.

CDU 632.4



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL)

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **MARLON HENRIQUE HAHN** intitulada: **LEVANTAMENTO BIBLIOMÉTRICO DOS ESTUDOS COM FUNGOS NEMATÓFAGOS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne* spp E POTENCIAL DE COGUMELOS NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica***, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

Curitiba, 20 de Fevereiro de 2017.

HENRIQUE DA SILVA SILVEIRA DUARTE
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

WAGNER VICENTE PEREIRA
Avaliador Externo (UFPR)

ODAIR JOSÉ KUHN
Avaliador Externo (UNIOESTE)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus familiares, especialmente minha Mãe Marcia Maria Hahn Siqueira, minha avó Maria Nelsi Welter e minha Bisavó Selma Machry, pela educação e incentivo que permitiu chegar até aqui. Ao meu companheiro e amigo, Paulo Henrique de Oliveira Bezerra.

Ao meu Orientador, Prof^o Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte. Aos meus Co-orientadores, Prof^a Dra. Louise Larissa May De Mio, Prof^o Dr. Odair José Kuhn e Prof^o Dr. José Renato Stangarlin, pelos ensinamentos, dedicação e confiança.

À Prof^a Dra. Renata Faier Calegario e ao Msc. Arlei Maceda pelas críticas e sugestões durante o processo de elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Epidemiologia para o Manejo Integrado de Doenças (LEMID): Jhulia, Mônica, Pamela, Glória, Eliane, Camilla, Heloisa, Rafaele, Alexandre, Carlos, Giselda, Marcos, Wagner, Juliana, Meira, Amanda, Érica, Jessica, Guilherme, Felipe, Karla, Thiago, Juliane, Sara e Jessica. Aos Técnicos dos Laboratórios: Simone, Tiago, Cléia e Izabel.

Ao Prof^o Dr. Átila Morgor, ao Eng. Agr. Msc. Luiz Gabriel Gemin, à Bióloga Msc. Carla Rosane Kosmann, à Eng. Agr. Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado pelo auxílio na obtenção do inóculo de *Meloidogyne* spp. utilizados neste trabalho.

Ao Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, em especial ao Eng. Agr. Msc. Arlei Maceda, à Méd. Vet. e Gerente dos Laboratórios, Msc. Rosária Regina Tesoni de Barros Richartz Rosário, e a Eng. Agr. Carmen Silvia Chamiço pelo auxílio na utilização do laboratório de Nematologia da Agência de Defesa Agropecuária do Paraná - ADAPAR.

Ao Dr. Fabrício Rocha Vieira e a Prof^a Dra. Marli Teixeira de Almeida Minhoni, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu, do Departamento de Produção Vegetal, Módulo de Cogumelos, por fornecer o isolado de *Coprinus comatus* (CCO01) utilizado neste estudo. À Pesquisadora Dra. Cristiane Helm da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Florestas), por fornecer os isolados de cogumelos pertencentes à coleção de cogumelos da EMBRAPA. Aos Professores Dr. Francisco Menino Destéfanis Vítola e Dr. Eduardo Bittencourt Sydney, pelo fornecimento dos

isolados de cogumelos comestíveis cultivados pela COGUBRAS (PSC01, PP01 e OC01).

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia - Produção Vegetal, em especial ao Coordenador Profº Dr. Cicero Deschamps e às secretárias do programa, Lucimara e Lucia.

À Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de realização do curso de Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal e à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade de realização do curso de graduação em Agronomia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por conceder a bolsa de Mestrado.

Aos funcionários e amigos de outros departamentos da universidade, que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

“Creio que, sem elas, não seria a pessoa que hoje sou, sem elas talvez a minha vida não tivesse logrado ser mais do que um esboço impreciso, uma promessa como tantas outras que de promessa não conseguiram passar, a existência de alguém que talvez pudesse ter sido e afinal não tinha chegado a ser.”

José Saramago, 1998

RESUMO

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) estão presentes em diversas partes do mundo, parasitando inúmeras espécies vegetais, dentre as quais estão incluídas muitas plantas de interesse econômico. Dentre as medidas de controle utilizadas para o manejo de *Meloidogyne* spp. estão os fungos nematófagos. O levantamento dos estudos referentes às interações de fungos nematófagos com *Meloidogyne* spp. pode fornecer informações sobre as principais espécies de fungos nematófagos, espécies de *Meloidogyne* alvo e as espécies de plantas hospedeiras mais estudadas no mundo. Dentre as espécies de fungos nematófagos, algumas espécies são capazes de produzir cogumelos, fato que torna o resíduo de sua produção uma possibilidade para o uso no controle de nematoides. Com base no exposto, os objetivos para a realização deste estudo foram: i) levantar informações sobre o panorama nacional e internacional das pesquisas com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp. ii) analisar o potencial de espécies de cogumelos para o controle de *Meloidogyne javanica*. O levantamento apontou a Índia com o maior número de publicações, seguida pelo Brasil. A frequência das publicações apresentou picos na década de 1990 e pós anos 2000. Das 189 espécies de fungos nematófagos estudadas, a espécie mais estudada foi *Pochonia chlamydosporia*. Os fungos nematófagos foram estudados para 9 espécies de *Meloidogyne*, sendo *M. incognita* e *M. javanica* as mais estudadas no mundo e no Brasil, respectivamente. A maior parte dos estudos foi realizada *in vivo*, no qual *Solanum lycopersicum* foi a espécie de planta hospedeira mais estudada. O segundo estudo avaliou as espécies de cogumelos com potencial ovicida, nematostático e nematicida. Para os testes realizados, os isolados de *Lentinula edodes*, *Macrocybe titans* e *Pleurotus eryngii* apresentaram potencial para o controle de *M. javanica in vitro*. Os cogumelos caracterizados como fungos nematófagos têm potencial para o controle de *Meloidogyne javanica*, o que permitirá o desenvolvimento de novas táticas de manejo para o controle de nematóides.

Palavras-chave: nematoide das galhas, controle biológico, basidiomicetos.

ABSTRACT

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are present in several parts of the world, parasitizing thousands of plant species, many of economic interest. Among the control measures used for *Meloidogyne* spp. are nematophagous fungi. Studies with nematophagous fungi have been carried out all over the world, and the survey of studies published worldwide in the world and in Brazil can provide information on the main species of nematophagous fungi, species of *Meloidogyne* spp. and most studied species of host plants worldwide. Among the nematophagous fungi species, some are capable of forming mushrooms, which makes the residue of its production a possibility for nematodes control. Based on the information exposed above, the objectives of this study were: i) gather information on the national and international panorama of nematophagous fungi research for *Meloidogyne* spp. control.; ii) analyze the potential of mushrooms species to control *Meloidogyne javanica*. The survey showed that India was the country with most publications, followed by Brazil. The frequency of the publications peaked in the 1990s and after the 2000s. From the 189 species of nematophagous fungi studied, the most studied species was *Pochonia chlamydosporia*. These species of fungi were tested for 9 species of *Meloidogyne*, being *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* the most studied in the world and in Brazil, respectively. Mushrooms characterized as nematophagous fungi have potential for *Meloidogyne javanica* control, which will allow the development of new nematode management strategies.

Key words: root-knot nematodes, biological control, basidiomycetes.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DE *Meloidogyne javanica* E O SINTOMA DE SUA INFECÇÃO EM RAÍZES DE TOMATEIRO. **A.** SISTEMA RADICULAR DE PLANTA DE TOMATEIRO INFESTADA POR *Meloidogyne javanica*; **B.** DETALHE DAS GALHAS FORMADAS NAS RAÍZES DAS PLANTAS DE TOMATEIRO; **C.** FÊMEA ADULTA DE *Meloidogyne javanica*; **D.** MACHO ADULTO; **E.** ESTÁDIO INICIAL DE DESENVOLVIMENTO DO OVO DE *Meloidogyne javanica*; **F.** JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO INICIANDO A RUPTURA DO OVO; **G.** OVO VAZIO APÓS A ECLOSÃO DO JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO; **H.** JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁDIO.20
- CAPÍTULO I - LEVANTAMENTO BIBLIOMÉTRICO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS NO CONTROLE DE *Meloidogyne* spp.**
- FIGURA 1 - NÚMERO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS NOS DIFERENTES PAÍSES SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.32
- FIGURA 2 - NÚMERO DE PUBLICAÇÕES INTERNACIONAIS LANÇADAS ANUALMENTE SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.34
- FIGURA 3 - NÚMERO DE NOVAS ESPÉCIES E TOTAL ACUMULADO DE ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ESTUDADOS NO MUNDO, SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.35
- FIGURA 4 - NÚMERO DE PUBLICAÇÕES LANÇADAS ANUALMENTE NO BRASIL SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES

	REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1995 E 2016.	36
FIGURA 5 -	NÚMERO DE NOVAS ESPÉCIES E TOTAL ACUMULADO DE ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ESTUDADOS NO BRASIL SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1995 E 2016.	37
FIGURA 6 -	ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO MUNDIAL SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.....	37
FIGURA 7 -	ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.....	40
FIGURA 8 -	ESPÉCIES DE NEMATOIDES DO GÊNERO <i>Meloidogyne</i> MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO MUNDIAL SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.	43
FIGURA 9 -	ESPÉCIES DE NEMATOIDES DO GÊNERO <i>Meloidogyne</i> MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.	43
FIGURA 10 -	CONDIÇÃO DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS NO CENÁRIO INTERNACIONAL E BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 A 2016.	44
FIGURA 11 -	ESPÉCIES DE PLANTAS HOSPEDEIRAS DE <i>Meloidogyne</i> UTILIZADAS NOS ESTUDOS <i>in vivo</i> MAIS ESTUDADAS NO	

	CENÁRIO MUNDIAL SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 A 2016.....	45
FIGURA 12 -	ESPÉCIES DE PLANTAS HOSPEDEIRAS DE <i>Meloidogyne</i> UTILIZADAS NOS ESTUDOS <i>in vivo</i> MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.....	46

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	ESTRATÉGIAS E TÁTICAS APLICÁVEIS PARA O MANEJO DE NEMATÓIDES SEGUNDO BARKER E KONNING (1998).	22
CAPÍTULO II - COGUMELOS NO CONTROLE ALTERNATIVO DE <i>Meloidogyne javanica</i>		
TABELA 1 -	LISTA DE FUNGOS UTILIZADOS PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE DIVERSAS DOENÇAS DE PLANTAS COM REGISTRO NO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. DADOS DISPONÍVEIS NO BANCO DE DADOS DE ACESSO LIVRE DO AGROFIT.	41
TABELA 2 -	ECLOSÃO DE JUVENIS DE <i>Meloidogyne javanica</i> SUBMETIDOS AOS FILTRADOS DE MEIO LÍQUIDO CULTIVO DE COGUMELOS.	71
TABELA 3.	ECLOSÃO DE J2 DE <i>Meloidogyne javanica</i> SUBMETIDOS AOS EXTRATOS AQUOSOS DO SUBSTRATO DE CULTIVO DE COGUMELOS EM SERRAGEM.	72
TABELA 4 -	MOTILIDADE E MORTALIDADE DE JUVENIS DE <i>Meloidogyne javanica</i> EXPOSTOS AOS FILTRADOS DO MEIO LÍQUIDO DE COGUMELOS. MORTALIDADE AVALIADA PELA ADIÇÃO DE NaOH (CHEN; DICKSON, 2000; HARADA; YOSHIGA, 2015).	74
TABELA 5 -	MOTILIDADE E MORTALIDADE DE JUVENIS DE <i>Meloidogyne javanica</i> EXPOSTOS AOS EXTRATOS AQUOSOS DO SUBSTRATO DE CULTIVO DE COGUMELOS EM SERRAGEM. MORTALIDADE AVALIADA PELA ADIÇÃO DE NaOH (CHEN; DICKSON, 2000; HARADA; YOSHIGA, 2015).	75
TABELA 6 -	IMOBILIZAÇÃO DE JUVENIS DE <i>Meloidogyne javanica</i> PELO MICÉLIO INTACTO DE COGUMELOS CULTIVADO EM MEIO ÁGAR-ÁGUA.	76
TABELA 7 -	IMOBILIZAÇÃO DE JUVENIS DE <i>Meloidogyne javanica</i> PELO MICÉLIO REGENERADO DE COGUMELOS CULTIVADO EM MEIO ÁGAR-ÁGUA.	77

TABELA 8 -	IMOBILIZAÇÃO DE JUVENIS DE <i>Meloidogyne javanica</i> PELO MICÉLIO REGENERADO DE COGUMELOS CULTIVADO EM MEIO CONTENDO 50% DA CONCENTRAÇÃO PADRÃO DE BATATA, DEXTROSE E ÁGAR (BDA).	78
------------	---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
2	REVISÃO GERAL	17
2.1	A CULTURA DO TOMATE.....	17
2.2	NEMATOIDES DAS GALHAS.....	18
2.3	CONTROLE ALTERNATIVO.....	22
3	CAPÍTULO I - LEVANTAMENTO BIBLIOMÉTRICO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS NO CONTROLE DE <i>Meloidogyne</i> spp.	26
3.1	INTRODUÇÃO.....	28
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
3.4	CONCLUSÕES.....	48
	REFERÊNCIAS	49
4	CAPÍTULO II - COGUMELOS NO CONTROLE ALTERNATIVO DE <i>Meloidogyne javanica</i>	59
4.1	INTRODUÇÃO.....	61
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	63
4.3	RESULTADOS.....	70
4.4	DISCUSSÃO.....	78
4.5	CONCLUSÕES.....	83
	REFERÊNCIAS	84
5	CONCLUSÕES GERAIS	89
	REFERÊNCIAS GERAIS	90
	APÊNDICE A	98
	APÊNDICE B	99

1 INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro moderno pertence à espécie *Solanum lycopersicum* Linnaeus, 1753. Essa cultura tem grande importância econômica no Brasil (QUEZADO-DUVAL et al., 2013), sendo produzidos cerca de 3,7 milhões de toneladas em cerca 58,6 mil ha em 2016. O Paraná foi o quarto estado em produção, produzindo cerca de 250 mil toneladas (6,7% do total nacional) em 4,4 mil ha (7,5% do total nacional) (IBGE, 2017).

A produtividade da cultura do tomateiro é afetada por diversos problemas fitossanitários (QUEZADO-DUVAL et al., 2013). Em todo o mundo, já foram relatadas cerca de 200 doenças e distúrbios fisiológicos que incidem sobre a cultura do tomateiro, cuja ocorrência pode resultar em danos e prejuízos (LOPES; AVILA, 2005). A importância de cada uma dessas doenças é diferente para cada região, pois é dependente de fatores como umidade, temperatura, época do ano, variedades/híbridos, condução e manejo.

Os nematoides consistem em um grupo de patógenos que afetam a cultura do tomateiro. *Meloidogyne* Goeldi (1887), popularmente conhecido como nematoide das galhas é o principal gênero de nematoides causadores de problemas na cultura do tomateiro (PINHEIRO; PEREIRA; SUINAGA, 2005). Está distribuído pelas principais regiões produtoras de tomate do mundo, sendo as espécies *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 e *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 as mais frequentes no Brasil (ROSA; WESTERICH; WILCKEN, 2014). Para a cultura do tomateiro, a redução na produção é dependente de diversos fatores. Determinado cultivar de tomate pode ser suscetível a uma determinada população de nematoides e tolerante a outra população de nematoides da mesma espécie, resultando em potenciais de dano diferentes (SEID et al., 2015). Entretanto, há relatos que as perdas devido o parasitismo por *Meloidogyne* spp. podem atingir cerca 80% (KASKAVALCI; ÖNCÜER, 1999)

Inicialmente, algumas medidas de controle são utilizadas para o controle dos nematoides. A seleção de mudas saudáveis impede a inserção de nematoides em uma área de cultivo (BRIDGE, 1996; COLLANGE et al., 2011). Entretanto, algumas vezes a inserção de nematoides é acidental, podendo ocorrer não somente pelo material

propagativo, mas também por meio da água de irrigação (HUGO; MALAN, 2010), implementos agrícolas e/ou pelos calçados dos trabalhadores rurais (COLLANGE et al., 2011). Após o estabelecimento dos nematoides na lavoura, são utilizadas medidas para manter a população de nematoides em níveis baixos para minimizar as perdas.

Os produtores rurais optam principalmente pelo controle químico (NYCZEPIR; THOMAS, 2009). Entretanto, a pressão social sobre a utilização de métodos de controle menos agressivos ao meio ambiente e a saúde humana, suprimiu o uso de alguns nematicidas químicos, e em alguns casos, muitos nematicidas foram banidos de alguns países ou tiveram seu uso restringido (COLLANGE et al., 2011). Deste modo, o controle biológico vem ganhando destaque pela necessidade de substituir o controle químico por outras medidas de controle menos agressivas ao meio ambiente e a saúde humana (MARTIN, 2003)

Atualmente são conhecidos diversos microrganismos que influenciam na vida dos nematoides. Esses microrganismos incluem bactérias, fungos, algas, protozoários e outros nematoides (MUKHTAR; PERVAZ, 2003), capazes de predação, parasitar fitonematoides (EAPEN; BEENA; RAMANA, 2005; LIU; XIANG; CHE, 2009). Os fungos nematófagos são comuns no solo e podem produzir estruturas especializadas para a captura de nematoides, tais como anéis constritores, redes tridimensionais de hifas e estruturas adesivas, além de liberarem compostos tóxicos na solução do solo (MUKHTAR; PERVAZ, 2003).

Alguns desses fungos nematófagos produzem basidiocarpos (cogumelos) e são utilizados principalmente para a alimentação humana. Atualmente, estima-se que a produção mundial de cogumelos seja de aproximadamente 25 mil toneladas (PHAN; SABARATNAM, 2012), com uma produtividade aproximadamente de 1 kg de cogumelo fresco para cada 5 kg de substrato de cultivo (WILLIAMS; MCMULLAN; MCCAHEY, 2001). Em alguns países, o descarte do substrato de cultivo de cogumelos é problemático, sendo necessária a busca por meios alternativos de utilização (PHAN; SABARATNAM, 2012).

Com base no exposto, diversos estudos científicos foram conduzidos para determinar o potencial de controle das diferentes espécies de fungos nematófagos, muitos dos quais foram selecionados especificamente para o controle de *Meloidogyne* spp. Em cada país foram desenvolvidas pesquisas para atender a demanda por conhecimento para o desenvolvimento de táticas para o manejo de

Meloidogyne spp. Assim, espécies de fungos nematófagos mais estudadas em cada país podem variar devido às características das espécies de nematoides e das culturas afetadas naquele país. A fim de expor o estado da arte da pesquisa científica relacionada ao controle biológico de *Meloidogyne* spp. por fungos nematófagos, o Capítulo I deste trabalho apresenta um levantamento do panorama internacional e nacional de publicações referentes ao controle de *Meloidogyne* spp. por fungos nematófagos, dos quais incluem os fungos antagonistas, predadores e parasitas.

Entre as diversas espécies de fungos nematófagos, os cogumelos possuem uma estratégia de predação bastante interessante. Dois modos de predação podem ser destacados: por estruturas específicas de afeito mecânico ou por liberação de toxinas. O efeito mecânico é observado na interação entre o micélio fúngico e os nematoides. Há também a possibilidade de observação do potencial nematicida e nematostático por meio de extratos aquosos dos substratos de cultivo, do qual são produzidas e acumuladas durante o crescimento micelial. O substrato saturado de toxinas é uma alternativa para o controle de nematoides. Assim, o capítulo II deste trabalho apresentará um estudo *in vitro* do potencial nematicida e nematostático dos cogumelos para o controle de *Meloidogyne javanica*.

2 REVISÃO GERAL

2.1 A CULTURA DO TOMATE

O tomateiro moderno é pertence à espécie *Solanum lycopersicum*, do qual está classificado como:

Filo: Spermatophyta Willkomm (1854)

Ordem: Solanales Juss. ex Bercht. & J.Presl (1820)

Família: Solanaceae Juss. (1789)

Gênero: *Solanum* Linnaeus, 1753

Espécie: *Solanum lycopersicum* Linnaeus, 1753

Essa espécie de planta é uma das olerícolas de maior importância econômica para o Brasil (QUEZADO-DUVAL et al., 2013), sendo produzidos cerca de 3,7 milhões de toneladas em cerca 58,6 mil ha em 2016. O Paraná foi o quarto estado em produção, produzindo cerca de 250 mil toneladas (6,7% do total nacional) em 4,4 mil ha (7,5% do total nacional) (IBGE, 2017). A importância econômica da cultura é evidente em relação aos custos de produção. Atualmente o custo de produção de um hectare de tomateiros está estimado em cerca de R\$ 100 mil (DELEO; BRITO JUNIOR; PARANHOS, 2016)

O encarecimento do custo de produção está associado a diversos fatores que afetam a cultura. Um fator importante é a inexistência do zoneamento agrícola para a cultura, fazendo com que a produção não acompanhe a demanda. Essa incompatibilidade de produção e demanda do mercado é agravada pela falta de crédito, inadimplência e informalidade durante a negociação da produção (CALAÇA, 2011). Mas o fator que mais encarece a produção é a necessidade de insumos, principalmente os agrotóxicos. Os agrotóxicos são utilizados no controle de pragas e doenças principalmente nas regiões de clima tropical (QUEZADO-DUVAL et al., 2013).

Inúmeras doenças incidem sobre a cultura do tomateiro (LOPES; AVILA, 2005). Essas doenças podem ser causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides (LOPES; REIS, 2011), sendo algumas delas capazes de limitar o cultivo devido à falta de medidas de controle eficazes ou pelos altos custos de controle. A importância de cada uma dessas doenças é diferente para cada região, pois é dependente de fatores como umidade, temperatura, época do ano, variedades/híbridos, condução e manejo (LOPES; AVILA, 2005).

2.2 NEMATOIDES DAS GALHAS

Os nematoides das galhas pertencem ao gênero *Meloidogyne*, e constitui um dos mais importantes grupos de fitonematóides com importância econômica para a agricultura (CADIOLI et al., 2007). Esse grupo é uma pequena parte do filo Nematoda, que inclui parasitas de animais e plantas, além das espécies de vida livre que vivem no solo e na água. A posição taxonomica do gênero *Meloidogyne* atualmente está categorizada em:

Filo: Nematoda Potts (1932)

Classe: Chromadorea Inglis (1983)

Ordem: Rhabditida Chitwood (1933)

Família: Heteroderidae Filip'ev & Schuurmans Stekhoven (1941)

Gênero: *Meloidogyne* Goeldi (1887)

A história desse gênero de nematoides iniciou em 1877 em cafeeiros no Rio de Janeiro (JOBERT, 1878). Entretanto, somente em 1887, Goeldi publicou um artigo com um estudo aprofundado do nematoide encontrado nas raízes dos cafeeiros. Goeldi descreveu o nematoide como agente causal do nó da raiz, e o nomeou como *Meloidogyne exigua* (GOELDI, 1887). Outros estudos foram realizados posteriormente, onde o gênero foi sinonimizado com *Heterodera radicícola* (GREEFF, 1876) e *Heterodera marioni* (GOODEY, 1932), até ser reorganizado pela descrição e redesccrição das quatro espécies de *Meloidogyne* mais comuns e amplamente distribuídas, sendo elas: *M. incognita*, *M. javanica*, *M.*

hapla e *M. arenaria* (CHITWOOD, 1949). Essas quatro espécies são polifágas, e juntas parasitam cerca de 3000 espécies de plantas (TRUDGILL; BLOK, 2001).

O trabalho de Chitwood (1949) forneceu evidências sobre a ecologia desses nematoides e as perdas na produção das culturas afetadas pelos nematoides das galhas, principalmente nas regiões tropicais (SASSER, 1977). A popularização do gênero favoreceu aumento do número de pesquisadores na área, propiciando o desenvolvimento dos nematicidas que estavam surgindo na época (TAYLOR; SASSER, 1978).

Atualmente são conhecidas cerca de 97 espécies do gênero *Meloidogyne* (HUNT; HANDOO, 2009). Os habitats originais de cada espécie de *Meloidogyne* são desconhecidos, pois a distribuição generalizada de material propagativo infectado dificulta a distinção das espécies endêmicas das exóticas (TAYLOR; SASSER, 1978). No Brasil as espécies *M. incognita* e *M. javanica* são as mais importantes (CHARCHAR et al., 2009)

O principal sintoma da infecção por *Meloidogyne* spp. é a formação de galhas nas raízes das plantas, formadas pela hiperplasia e hipertrofia de células, estimuladas pela penetração do estilete dos juvenis de segundo estágio (J2), nos quais se desenvolvem até se tornarem fêmeas adultas e sedentárias (CAILLAUD et al., 2008) (FIGURA 1). A distinção entre os sexos do nematoide é visível nos adultos, sendo que os machos adultos possuem corpo filiforme com 1,2 a 1,3 mm de comprimento, e as fêmeas adultas possuem os corpos com formato típico que se assemelha a uma pêra com 0,4 a 1,3 mm de diâmetro. As fêmeas sedentárias encontram-se no interior das galhas, os machos e juvenis possuem vida livre.

A doença ocorre pela penetração do J2 nas raízes, migrando entre os espaços inter celulares até o cilindro vascular, onde penetra o estilete para se alimentar (CAILLAUD et al., 2008). Após três dias do estabelecimento do nematoide, é observada a formação das células de alimentação, do qual fornecerão os nutrientes necessários para o desenvolvimento das fêmeas sedentárias. A formação dessas células de alimentação gera as galhas radiculares típicas da infecção por *Meloidogyne* spp.



FIGURA 1 - DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DE *Meloidogyne javanica* E O SINTOMA DE SUA INFECÇÃO EM RAÍZES DE TOMATEIRO. **A.** SISTEMA RADICULAR DE PLANTA DE TOMATEIRO INFESTADA POR *Meloidogyne javanica*; **B.** DETALHE DAS GALHAS FORMADAS NAS RAÍZES DAS PLANTAS DE TOMATEIRO; **C.** FÊMEA ADULTA DE *Meloidogyne javanica*; **D.** MACHO ADULTO; **E.** ESTÁDIO INICIAL DE DESENVOLVIMENTO DO OVO DE *Meloidogyne javanica*; **F.** JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO INICIANDO A RUPTURA DO OVO; **G.** OVO VAZIO APÓS A ECLOSÃO DO JUVENIL DE SEGUNDO ESTÁDIO; **H.** JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁDIO.

Enquanto as fêmeas se desenvolvem no interior das galhas, os machos migram para fora da planta. Entretanto, para algumas espécies de *Meloidogyne* spp., os machos não desempenham papel na reprodução (CAILLAUD et al., 2008). A partenogênese mitótica (apomítica) obrigatória é encontrada nas principais espécies de *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica* (CASTAGNONE-SERENO,

2006). Para essas espécies, mesmo com a presença do macho e a inseminação das fêmeas, o ovo se desenvolve diretamente em embrião, pois o núcleo do espermatozóide se degenera (TRANTAPHYLLOU, 1962). Os ovos permanecem em uma matriz gelatinosa na superfície da raiz, onde a embriogênese é completada e seguida da primeira ecdise ainda dentro do ovo, do qual irá eclodir um juvenil (CAILLAUD et al., 2008).

Mesmo no estágio de ovo, a eclosão do J2 é dependente de fatores abióticos como a temperatura (CAMPOS; CAMPOS; POZZA, 2008). Esse fator é limitante para a eclosão dos J2. Como exemplo dessa relação, *M. javanica* possui uma taxa de eclosão a 15 °C cerca de 5 vezes menor que a taxa de eclosão a 30 °C (BIRD, 1972). Temperaturas entre 5 e 10 °C afetam drasticamente a embriogênese de *M. javanica* (CAMPOS; CAMPOS; POZZA, 2008). Deste modo, temperaturas baixas desfavorecem a população desses nematoides.

A população dos nematoides é extremamente favorecida por temperaturas adequadas ao desenvolvimento dos nematoides. Plantas hospedeiras com fator de reprodução alto e temperaturas médias 25 °C permite que fêmeas de *M. javanica* produzam cerca de 2000 ovos em ciclos de vida de 29 dias (TRUDGILL, 1995). Quando a população está em níveis altos, são observadas galhas em abundância. As galhas reduzem a capacidade das raízes absorverem água (KIRKPATRICK; OOSTERHUIS; WULLSCHLEGER, 1991) e conseqüentemente nutrientes (CARNEIRO et al., 2002). Os sintomas reflexos no dossel da planta geralmente são caracterizados pela deficiência de nutrientes, principalmente nitrogênio (SIDDIQUI; IQBAL; MAHMOOD, 2001).

A fim de reduzir os danos causados pelos nematoides, muitas são as estratégias que podem ser utilizadas no seu controle. Algumas destas estratégias de controle foram compiladas por Barker e Koenning (1998), e estão descritas na TABELA 1. Estratégias como a rotação de culturas, utilização de cultivares resistentes, produtos químicos com ação nematicida, controle biológico e o controle alternativo são algumas alternativas de controle (BARKER; KOENNING, 1998; CADIOLI et al., 2007). Muitas vezes, o uso de defensivos químicos é o método mais utilizado no controle de fitonematóides, entretanto, métodos de controle alternativo podem ser capazes de manter a população desses fitopatógenos abaixo do nível de dano.

TABELA 1 - ESTRATÉGIAS E TÁTICAS APLICÁVEIS PARA O MANEJO DE NEMATÓIDES SEGUNDO BARKER E KONNING (1998).

Estratégia	Tática	Eficiência relativa*
Exclusão	Quarentena	M - A
	a) Eliminação de focos	A - M
	b) Cultural	
	Material propagativo sadio	A
	Rotação de culturas	B - A
	Intra e inter cultivos	B - M
	Manejo do solo	B - M
	Plantas de cobertura e plantas iscas	B - M
	Cultivo de gramíneas ou pousio (livre de plantas daninhas)	B - A
	Época de plantio/colheita	B - M
	Higiene da propriedade	M - A
	Controle de plantas daninhas hospedeiras	
	Redução da densidade populacional inicial	c) Resistência vertical
d) Nematicidas químicos		
Fumigantes		M - A
Não fumigantes		B - A
e) Biológicos		
Naturais		B - A
Introduzidos		B - A
Alteração orgânica		B - A
f) Físico		
Destruição de restos culturais		B - M
Aquecimento - Solarização	B - M	
Inundação	B - M	
Supressão da reprodução dos nematoides	a) Resistência Horizontal/quantitativa	B - M
	b) Proteção complementar com nematicidas químicos	B - M
	c) Alterações orgânicas	B - A
	d) Sistemas de produção biológicos	M - A
Restrição de danos na safra corrente ou futura	a) Cultivares tolerantes	B - A
	b) Mais de uma tática	M - A
	c) Sistemas de produção biológicos	—

*Abreviaturas: B, baixo; M, moderada; A, alta. FONTE: (BARKER; KOENNING, 1998).

2.3 CONTROLE ALTERNATIVO

As possíveis práticas de controle alternativo para fitonematóides consistem na introdução e viabilização de agentes de controle biológico, integração de plantas antagonistas, adubação verde, produtos naturais e adição de matéria orgânica (BARKER; KOENNING, 1998). A utilização destas técnicas permite que o ecossistema adquira o potencial supressor, através de fatores bióticos que previnam

ou reduzam a disseminação de agentes patogênicos (SIKORA, 1992). Assim, o controle alternativo oferece uma opção ambientalmente segura e ecologicamente viável no controle de fitopatógenos, sendo considerado um grande promotor da agricultura sustentável no controle de fitoparasitas de solo (CADIOLI et al., 2009; NUNES; MONTEIRO; POMELA, 2010).

Os solos apresentam uma infinidade de microrganismos que influenciam a vida do nematoide, incluindo bactérias, fungos, algas, protozoários e outros nematoides (LOPES et al., 2007; MUKHTAR; PERVAZ, 2003), capazes de predação, parasitar ou matar os mesmos (EAPEN; BEENA; RAMANA, 2005; LOPES et al., 2007).

A colonização da rizosfera por fungos nematófagos pode ter efeito sinérgico sobre as respostas de defesa das plantas hospedeiras ao ataque de fitonematóides (BORDALLO et al., 2002). Muitos fungos possuem estruturas especializadas para a captura de nematoides, tais como anéis constritores, redes tridimensionais de hifas e estruturas adesivas, além de liberarem compostos tóxicos ou adesivos (MUKHTAR; PERVAZ, 2003).

Alguns fungos saprófitas, como o caso de basidiomicetos, que sobrevivem em substratos com alta relação C/N, tal como a madeira, dependem de um suplemento de nitrogênio extra, desta forma, desenvolveram estratégias de predação de nematoides, obtendo o nitrogênio necessário para a manutenção do seu metabolismo (LUO et al., 2004; THORN; BARRON, 1984). Recentemente, as pesquisas relacionadas ao controle de nematoides têm apontado alguns fungos capazes de predação e parasitar nematoides. Esses fungos denominados de nematófagos, comuns na biota do solo, são microrganismos saprófitas que desenvolveram a habilidade de atuar como predadores ou parasitas de nematoides, a fim de suprir essa exigência de nitrogênio (LUO et al., 2004; THORN; BARRON, 1984).

Algumas dessas interações entre cogumelos e nematoides já foram relatadas para as espécies: *Agaricus bisporus* (ASLAM, 2013), *Amauroderma macer* (DONG et al., 2006), *Coprinus comatus* (LUO et al., 2004, 2007), *Hohenbuehelia atrocaerulea*, *Hohenbuehelia grisea*, *Hohenbuehelia mastrucata*, *Hohenbuehelia petaloides*, *Hohenbuehelia portegma* (THORN; BARRON, 1984), *Omphalotus olearius*, *Peziza* spp. (DONG et al., 2006), *Pleurotus cornocopiae* (HEYDARI; POURJAM; GOLTAPPEH, 2006; THORN; BARRON, 1984), *Pleurotus cystidiosus*

(THORN; BARRON, 1984), *Pleurotus florida* (HEYDARI; POURJAM; GOLTAPPEH, 2006), *Pleurotus ostreatus* (HEYDARI; POURJAM; GOLTAPPEH, 2006; OKORIE; ONONUJ; OKWUJIAKO, 2011; THORN; BARRON, 1984), *Pleurotus sajor-caju* (HEYDARI; POURJAM; GOLTAPPEH, 2006), *Pleurotus strigosus*, *Pleurotus subareolatus* (THORN; BARRON, 1984), *Pleurotus tuber-regium* (HIBBETT; THORN, 1994; OKORIE; ONONUJ; OKWUJIAKO, 2011) e *Resupinatus subareolatus* (THORN; BARRON, 1984). Dentre todas as espécies de cogumelos estudados, destacam-se as espécies pertencentes ao gênero *Pleurotus* spp.

Pleurotus ostreatus é conhecidamente um predador de nematóides (THORN; BARRON, 1984). Suas hifas secretam algumas toxinas, denominadas de ostreatinas, causadoras de paralisia nos nematóides (BARRON; THORN, 1987; HIBBETT; THORN, 1994). Heydari et al (2006), concluiu que as toxinas produzidas por *Pleurotus ostreatus* cultivados em meios de cultura líquido foram capazes de paralisar até 100% dos juvenis após 24 horas de incubação. Aslam (2013) avaliando o potencial da utilização do composto exaurido de *Pleurotus florida* e *Agaricus bisporus* no controle de *M. incognita* parasitando plantas de tomateiro, concluíram que o tratamento causou a redução expressiva na eclosão de ovos e aumento da mortalidade de juvenis com a aplicação de substrato de *P. florida* no solo. A mortalidade de juvenis causada por *Pleurotus* spp. também foi evidenciada pelos testes realizados por Okorie; Ononuj; Okwujiako (2011), em que observaram a redução no número de nematoides das galhas nos tratamentos inoculados com *P. ostreatus*.

Essa infinidade de espécies de cogumelos, das quais muitas são comestíveis, são cultivadas em diferentes substratos orgânicos, tais como madeira, resíduos industriais (CARDOSO; DEMENJOUR; PAZ, 2013; DULAY, 2012), gramíneas (OKORIE; ONONUJ; OKWUJIAKO, 2011; REYES et al., 2009) e em diversos resíduos agrícola. Diante da produção comercial dessas espécies de cogumelos, o resíduo da produção é utilizado como ração animal (SCHMIDT et al., 2003), biorremediação, adubação orgânica (RIBAS et al., 2009; SILVA, 2009), e para o controle de nematoides do solo (ASLAM, 2013; HEYDARI; POURJAM; GOLTAPPEH, 2006; OKORIE; ONONUJ; OKWUJIAKO, 2011).

O potencial de controle de nematoides por meio da utilização do substrato do cultivo de cogumelos comestíveis deve ser mais estudado, a fim de determinar a melhor maneira de utilização deste resíduo na agricultura.

Capítulo I

LEVANTAMENTO BIBLIOMÉTRICO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS NO CONTROLE DE *Meloidogyne* spp.

3 CAPÍTULO I - LEVANTAMENTO BIBLIOMÉTRICO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS NO CONTROLE DE *Meloidogyne* spp.

RESUMO

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) são organismos distribuídos por diversos países do mundo, sendo responsáveis por perdas em diversas espécies de plantas de interesse econômico. Diversos estudos foram realizados com espécies de fungos nematófagos para o controle desses patógenos, e o levantamento desses estudos poderá fornecer informações sobre as espécies de fungos nematófagos, espécies de *Meloidogyne* spp. alvo e as espécies de plantas hospedeiras mais estudadas. Com base no exposto, os objetivos para a realização deste estudo foram: i) conhecer os principais países que mais publicaram trabalhos com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp.; ii) conhecer o comportamento temporal das publicações; iii) conhecer o comportamento temporal de descobertas de novas espécies de fungos nematófagos; iv) conhecer as principais espécies de fungos nematófagos estudados; v) conhecer as espécies de *Meloidogyne* spp. foco das pesquisas; vi) conhecer as condições de realização das pesquisas; vii) conhecer as principais espécies de plantas hospedeiras de *Meloidogyne* spp. O levantamento apontou que a Índia foi o país que mais publicou entre 1976 e 2016, seguida pelo Brasil. A frequência das publicações apresentou picos na década de 1990 e pós anos 2000. Das 189 espécies de fungos nematófagos estudadas, a espécie mais estudada foi *Pochonia chlamydosporia*, tanto no cenário nacional como internacional. Os fungos nematófagos tiveram como alvo 9 espécies definidas de *Meloidogyne*, sendo *M. incognita* e *M. javanica* as mais estudadas no mundo e no Brasil, respectivamente. Cerca de 70 e 88% das ocorrências internacionais e brasileiras, respectivamente, foram realizados em condição *in vivo*, no qual *Solanum lycopersicum* foi a espécie de planta hospedeira mais estudada. Mesmo com o avanço científico nos últimos 30 anos, o controle biológico de nematoides por fungos nematófagos ainda é pouco expressivo no Brasil.

Palavras-chave: Nematóide das galhas. Controle biológico. *Pochonia chlamydosporia*.

CHAPTER I - BIBLIOMETRIC SURVEY OF STUDIES WITH NEMATOPHAGOUS FUNGI FOR THE CONTROL OF *Meloidogyne* spp.

ABSTRACT

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are organisms present in several countries of the world, being responsible for losses in several species of plants of economic interest. Several studies have been carried out with nematophagous fungi species to control these pathogens, and the survey of these studies can provide information on the main species of nematophagous fungi, studied species of *Meloidogyne* spp. and most studied species of host plants. Based on the above, the objectives for this study were: i) to know the countries that have published most works with nematophagous fungi for *Meloidogyne* spp. control; ii) to know the temporal behavior of publications; iii) to know the temporal behavior of the first researches of new nematophagous fungi species; iv) to know the main species of nematophagous fungi studied; v) to know the species of *Meloidogyne* spp. that are the focus of research; vi) to know the conditions of researches; vii) to know the main species of host plants of *Meloidogyne* spp. studied. The survey pointed out that India was the country that published the most between 1976 and 2016, followed by Brazil. The publications frequency peaked in the 1990s and after the 2000s. From the 189 species of nematophagous fungi studied, the most studied species was *Pochonia chlamydosporia*, nationally and internationally. These species of fungi were tested for 9 species of *Meloidogyne*, being *M. incognita* and *M. javanica* the most studied in the world and in Brazil, respectively. In the world and Brazil, about 70 and 88% of the studies were performed *in vivo* condition, respectively, in which *Solanum lycopersicum* was the most studied host plant species. Even with the scientific advance in the last 30 years, the biological control of nematodes by nematophagous fungi is still not very expressive in Brazil.

Key Words: *Meloidogyne* spp. Biological control. *Pochonia chlamydosporia*.

3.1 INTRODUÇÃO

Os nematoides formadores de galhas pertencem ao gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Esse gênero constitui um dos mais importantes grupos de fitonematóides para a agricultura (CADIOLI et al., 2007), pois parasitam uma ampla gama de hospedeiros (ANWAR; MCKENRY, 2010). O principal sintoma da infecção por *Meloidogyne* spp. é a formação de galhas nas raízes das plantas, formadas pela hiperplasia e hipertrofia de células estimuladas pela penetração do estilete dos nematoides nas células do tecido do hospedeiro (CAILLAUD et al., 2008). As fêmeas ficam abrigadas no interior das galhas, ocorrendo o processo reprodutivo que na maioria das espécies de *Meloidogyne* spp. ocorre por partenogênese (CASTAGNONE-SERENO, 2006). Os ovos permanecem aglomerados em uma massa gelatinosa situada próxima da região perineal do corpo da fêmea (CAILLAUD et al., 2008). Em algumas situações, os machos adultos com corpo filiforme, podem ser originados pela reversão sexual que ocorre quando as condições ambientais não são propícias aos nematoides (CASTAGNONE-SERENO, 2006).

O controle desses patógenos é extremamente difícil devido seu curto período de geração e altas taxas reprodutivas (TRUDGILL; BLOK, 2001), o que muitas vezes leva os produtores a optar pelo controle químico (JANG et al., 2016). Por muito tempo o controle químico de nematoides era realizado por meio da fumigação com brometo de metila. O efeito desse produto era esterilizante, causando a morte imediata dos seres vivos no solo (FIELDS; WHITE, 2002; XIE et al., 2015). Entretanto, o Brometo de metila foi banido de diversos países, pois seu efeito era extremamente prejudicial ao meio ambiente e a saúde humana (ZUCKERMAN; ESNARD, 1994; FIELDS; WHITE, 2002; XIE et al., 2015). Assim, devido à pressão social por uma agricultura menos agressiva e ecológica, o controle biológico se tornou uma alternativa para o controle de nematoides (HUANG et al., 2014).

Dentre os agentes de controle biológico, os fungos nematófagos permitem estratégias de controle para várias fases do ciclo de desenvolvimento dos nematoides das galhas. A aglomeração dos ovos na matriz gelatinosa favorece o parasitismo de ovos por fungos nematófagos (CADIOLI et al., 2007; KOK; PAPERT;

HOK-A-HIN, 2001). Da mesma forma, ocasionalmente as fêmeas sedentárias podem ser parasitadas por fungos nematófagos. Os juvenis de segundo estágio (J2) também são suscetíveis aos antagonistas (KOK; PAPERT; HOK-A-HIN, 2001). Muitos fungos nematófagos produzem estruturas de predação especializadas. Algumas dessas estruturas podem ser anéis constritivos ou não, redes de hifas, vesículas espinhosas, vesículas adesivas ou tóxicas (EAPEN; BEENA; RAMANA, 2005; YANG et al., 2007).

Diversos estudos científicos foram conduzidos para determinar o potencial de controle das diferentes espécies de fungos nematófagos, muitos dos quais foram selecionados especificamente para o controle de *Meloidogyne* spp. Em cada país foram desenvolvidas pesquisas para atender a demanda por conhecimento para o desenvolvimento de táticas para o manejo de *Meloidogyne* spp. Assim, espécies de fungos nematófagos mais estudadas em cada país podem variar devido às características das espécies de nematoides e das culturas afetadas naquele país. O levantamento dos estudos publicados mundialmente e no Brasil poderá fornecer informações sobre as espécies de fungos nematófagos, espécies de *Meloidogyne* spp. alvo e as espécies de plantas hospedeiras mais estudadas.

Os objetivos para a realização deste estudo foram: i) conhecer os principais países que mais publicaram trabalhos com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp.; ii) conhecer o comportamento temporal das publicações internacionais e brasileiras; iii) conhecer o comportamento temporal do início das pesquisas de novas espécies de fungos nematófagos no cenário internacional e nacional; iv) conhecer as principais espécies de fungos nematófagos estudados no cenário internacional e brasileiro; v) conhecer as espécies de *Meloidogyne* spp. foco das pesquisas com fungos nematófagos no cenário internacional e brasileiro; vi) conhecer as condições de realização das pesquisas; vii) conhecer as principais espécies de plantas hospedeiras de *Meloidogyne* spp. estudadas no cenário internacional e nacional.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Nos meses de abril de 2016 até janeiro de 2017 foi realizado um levantamento bibliográfico utilizando o acesso restrito às bases de dados assinadas pela Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal (CAPES), disponível pelo endereço de IP da Universidade Federal do Paraná (UFPR). O levantamento consistiu na pesquisa de artigos científicos nas bases de dados da CAB Abstracts e Web Of Science. Os termos utilizados foram “*Meloidogyne*” e “nematophagous fungus” utilizando como filtro a opção de busca por somente artigos.

Foram levantados os dados referentes ao título do artigo, ano de publicação, país de filiação do primeiro autor, espécie de *Meloidogyne* estudado, espécie de fungo proposto para o controle biológico de *Meloidogyne* spp., condições de realização dos experimentos (*in vitro* ou *in vivo*, e espécie de planta hospedeira se *in vivo*).

Os dados foram extraídos a partir da leitura do título, resumo e palavras-chave das publicações. Foram excluídas as publicações caracterizadas como revisões bibliográficas ou artigos que não relacionavam a interação direta do fungo com algum nematoide pertencente ao gênero *Meloidogyne*. A leitura do trabalho completo foi realizada nos casos em que a leitura do título, palavras-chave ou resumo não era suficiente para identificar as espécies de nematoides e fungos estudados. Neste caso, para as espécies de fungos nematófagos, foram consideradas somente aquelas em que os autores propuseram como potencial para o controle de nematoides do gênero *Meloidogyne*.

Para o levantamento dos países que contribuíram para as pesquisas, foi realizado o levantamento dos endereços das instituições das quais o primeiro autor de cada trabalho era filiado. Foi excluído o levantamento dos países de filiação dos co-autores. A quantificação de publicações de cada país foi realizada por meio da contagem dos títulos das publicações.

A quantificação da frequência de espécies de *Meloidogyne*, fungos nematófagos e plantas hospedeiras foram realizados por meio da contagem de ocorrências em que determinada espécie de nematoide estava associada a uma determinada espécie de fungo nematófago em determinada espécie de planta

hospedeira (ou na condição *in vitro*). Como exemplo: um trabalho fictício que avaliou a eficiência de 5 tratamentos (T1, T2, T3: *Pochonia chlamydosporia* (Goddard, 1913) Zare & W. Gams, 2001, T4: *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (1974) e T5: Controle químico, sobre 3 espécies de nematoides (*Meloidogyne javanica* Treub 1885, *Meloidogyne incognita* Kofoid & White, 1919 e *Pratylenchus penetrans* Cobb, 1917), em 3 espécies de plantas hospedeiras (soja, tomate e quiabo), gerou 12 ocorrências. Sendo assim, 2 espécies de fungos nematófagos, para 2 espécies de nematoides resultaram em 4 ocorrências para cada uma das espécies de plantas hospedeiras. Neste caso, uma publicação correspondeu à 12 ocorrências.

Trabalhos que avaliaram diferentes métodos de aplicação ou diferentes isolados de uma espécie de fungo nematófagos, geraram uma única ocorrência para mesma espécie de nematoide em uma mesma espécie de planta hospedeira. Como exemplo: um trabalho fictício que avaliou a aplicação de *P. chlamydosporia* por diferentes métodos (T1: no sulco de semeadura, T2: tratamento de sementes e T3: sobre a palhada na cultura anterior), para o controle de *M. incognita* em feijoeiro gerou uma única ocorrência. Nos casos em que as publicações apresentavam dados da aplicação combinada de duas espécies de fungos, foi considerada uma ocorrência para cada espécie de fungo aplicado isoladamente.

Nos trabalhos em que não foi possível identificar a espécie de planta hospedeira por meio da leitura do título, resumo ou palavras-chave, procedeu-se a leitura do trabalho na íntegra. Para os casos de levantamentos de fungos nematófagos, foi atribuída uma ocorrência para cada espécie de fungo nematófago associado a uma espécie de nematoide em uma espécie de planta hospedeira. Quando a espécie de planta hospedeira não estava claramente relacionada ao nematoide e o fungo, foi atribuída a condição *in vivo* para a ocorrência. Os trabalhos em que foram identificadas as plantas hospedeiras foram somados aos classificados como *in vivo* para a determinação da proporção de estudos *in vitro* e *in vivo*.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O levantamento utilizando os termos “*Meloidogyne*” e “nematophagous fungi” associado ao filtro de somente artigos, que resultou em 350 publicações. Após a análise dos trabalhos, 323 foram diretamente relacionadas ao controle de *Meloidogyne* spp. por fungos nematófagos e enquadravam-se nas condições descritas na metodologia. Na base de dados Web of Science, foi realizada outra pesquisa de artigos com os mesmos termos. A pesquisa retornou uma lista contendo 200 publicações, das quais foi realizada eliminação dos resumos já obtidos pela pesquisa na base da CAB. A análise dos trabalhos permitiu identificar 51 publicações adicionais que se enquadravam nos critérios estabelecidos na metodologia. No total, foram levantadas 374 publicações.

Dentre o total de publicações, o percentual de contribuição de cada país está ilustrado na FIGURA 1. A Índia é evidentemente participativa no cenário mundial em pesquisas com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp., sendo responsável por 114 publicações, equivalente a 30,5% do total de publicações nos anos entre 1976 e 2016.

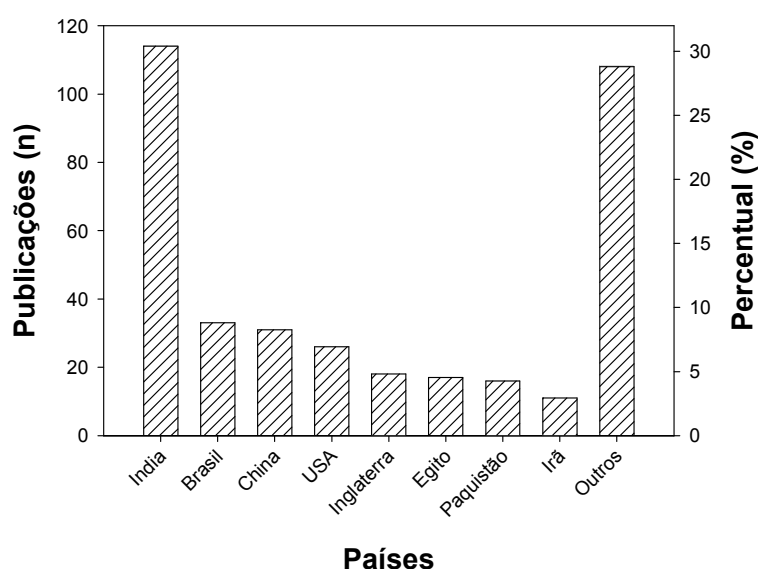


FIGURA 1 - NÚMERO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS NOS DIFERENTES PAÍSES SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

O Brasil tem a segunda maior produção com 33 publicações (8,8% do total mundial), seguidos pela China (8,3%), Estados Unidos da América (7,0%), Inglaterra (4,8%), Egito (4,6%), Paquistão (4,3%) e Irã (2,9%). Esses oito países produziram cerca de 70% das publicações mundiais. Entretanto, 28,87% das publicações foram oriundas de outros 41 países pouco expressivos no cenário mundial das pesquisas com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp.

A importância dos países em desenvolvimento como a Índia, Brasil e China no cenário mundial das pesquisas com fungos nematófagos, pode estar relacionada à tendência mundial pela busca de métodos de controle de fitopatógenos menos tóxicos ao meio ambiente e a saúde. Essa busca é propulsionada pela necessidade destes países em atender os limites máximos de agrotóxicos propostos pelo *Codex Alimentarius*. O comitê do *Codex* é responsável por estipular e atualizar os limites máximos de agrotóxicos toleráveis (CHEN et al., 2015), que é base para as exigências de inúmeros países importadores de produtos alimentícios.

O número de pesquisas com fungos nematófagos para o manejo de *Meloidogyne* spp. em olerícolas e frutíferas pode ser justificado pela importância do nível de restrição de resíduos de agrotóxicos nesses produtos. No Brasil, por exemplo, o monitoramento de resíduos de agrotóxicos de frutas e olerícolas vêm sendo realizado na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) em parceria com o Instituto Biológico desde 1978 (GEBARA et al., 2005). Outros países como a China (CHEN et al., 2015) e os Estados Unidos (KATZ; WINTER, 2009) também possuem regulamentação e monitoramento dos níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos. Deste modo, o controle biológico é uma alternativa a ser utilizada como estratégia para a manutenção dos níveis de agrotóxicos abaixo dos níveis máximos toleráveis.

As publicações mundiais entre os anos de 1976 e 2016 foram expressas na FIGURA 2. Segundo esse levantamento, é possível observar dois momentos de maior número de contribuições para as pesquisas com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp. O primeiro momento ocorreu entre os anos de 1991 e 1999. Esse interesse da comunidade científica pelo controle biológico de nematoides por fungos nematófagos pode ter sido influenciado pela pressão social iniciada nos anos 90, favorecida pelo lançamento da Política de redução dos riscos dos pesticidas agrícolas pela União Européia em 1991 (CEE, 1991), além da proposta de banimento do Brometo de Metila, que era o principal nematicida utilizado

(ZUCKERMAN; ESNARD, 1994). Este tipo de política visou reduzir o controle químico e substituir parte dele por métodos de controle menos agressivos ao meio ambiente e a saúde humana.

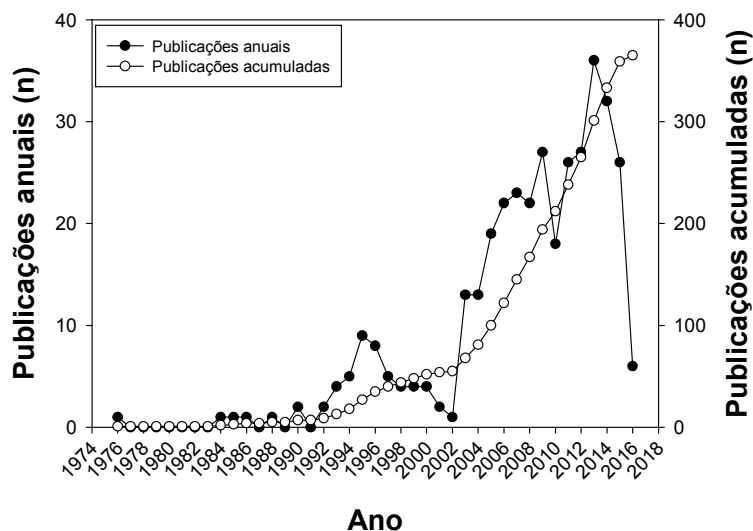


FIGURA 2 - NÚMERO DE PUBLICAÇÕES INTERNACIONAIS LANÇADAS ANUALMENTE SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

O período de incremento no número de novas publicações também pode ter sido influenciado pelo desenvolvimento de técnicas moleculares mais acessíveis. O desenvolvimento de técnicas moleculares para a identificação de espécies de fungos permitiu identificar espécies desconhecidas e reagrupar grupos que até então eram muito discutidos em relação sua posição taxonômica (BLACKWELL, 2011).

Antes do surgimento das técnicas moleculares, a descrição de fungos nematófagos era exclusivamente baseada em morfologia (BLACKWELL, 2011; SAXENA, 2008). A evolução dessas técnicas redefiniu a taxonomia dos fungos nematófagos, gerando um aumento no número de novas espécies. O surgimento de novas espécies de fungos nematófagos, conseqüentemente, estimulou novas pesquisas com estes agentes. As ferramentas moleculares também tiveram papel importante na compreensão dos processos de transição de fungos saprofitos para fungos nematófagos (NORDBRING-HERTZ, 2004).

O segundo momento iniciou em 2003 até 2015. O incremento no número de publicações nesse período pode ter sido favorecido pelas políticas de redução do uso do Brometo de Metila. Por meio de acordo internacional, após 1995 foi iniciada a

redução progressiva do uso de Brometo de Metila até 2010. Em 1997, um novo acordo previa a eliminação do uso até 2005 para os países desenvolvidos, e o congelamento das reduções para os países em desenvolvimento até 2002, levando a eliminação total em 2015 (TEAP, 1998).

Os aumentos expressivos no número de novas espécies de fungos nematófagos estudados correspondem aos períodos com maiores incrementos no número de publicações (FIGURA 3). Possivelmente esses fatos estão relacionados, pois com o favorecimento das pesquisas na década de 1990, novas espécies foram descobertas e com isso também eram realizados estudos para analisá-las mais profundamente. Com desenvolvimento de técnicas moleculares, houve um aumento de novas espécies de fungos nematófagos, exigindo que mais estudos fossem realizados para avaliar o potencial dessas novas espécies de fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne*.

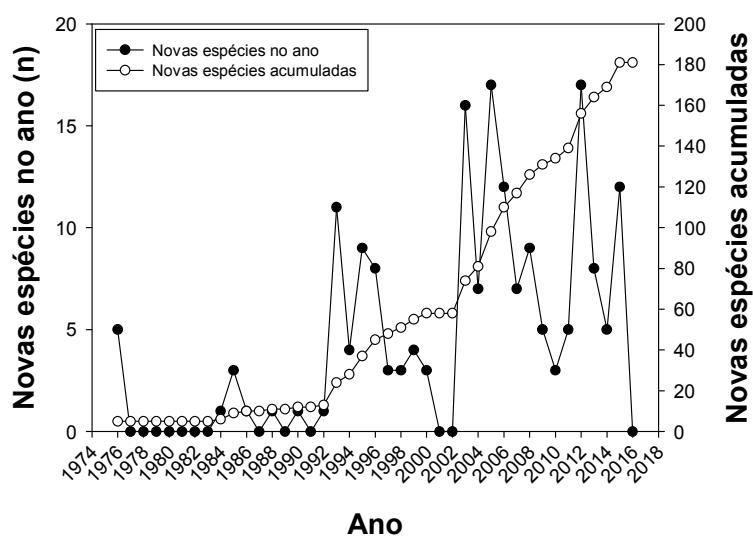


FIGURA 3 - NÚMERO DE NOVAS ESPÉCIES E TOTAL ACUMULADO DE ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ESTUDADOS NO MUNDO, SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

Em relação às publicações brasileiras (FIGURA 4), a pesquisa nas bases de dados retornou trabalhos publicados somente após 1995. Este fato pode ser associado à possibilidade de que diversos periódicos brasileiros tenham sido indexados somente após 1995, resultando na exclusão dos trabalhos anteriores ao período indexado. Até 2005, poucos trabalhos foram publicados. Entretanto, a partir

do ano de 2008 as pesquisas com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp. no Brasil começaram a se tornar mais expressivas.

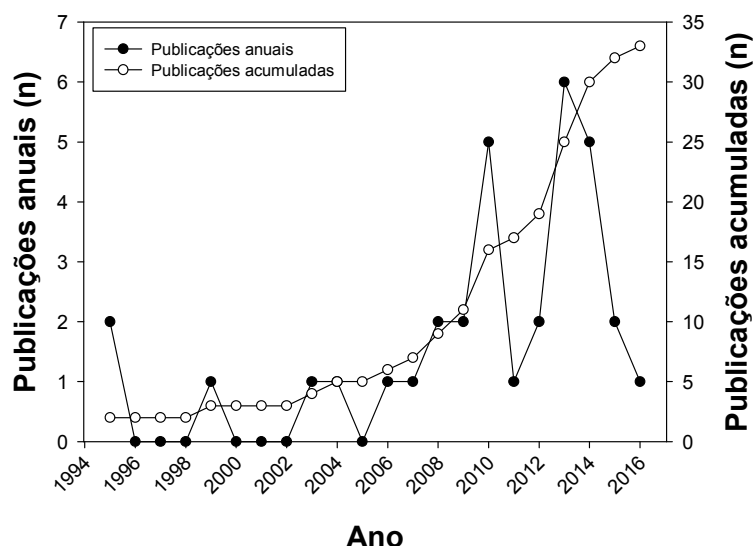


FIGURA 4 - NÚMERO DE PUBLICAÇÕES LANÇADAS ANUALMENTE NO BRASIL SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1995 E 2016.

O número de novas espécies estudadas no Brasil foi expresso na FIGURA 5. Da mesma forma que o panorama internacional se comporta em relação ao número de novas espécies de fungos nematófagos e sua relação com número de publicações, o panorama brasileiro também apresenta este comportamento. Os picos de novas publicações nos anos de 1999, 2003, 2004, 2007, 2010 e 2013 se repetem para novas espécies de fungos nematófagos estudadas, evidenciando ainda mais sua a relação entre essas duas variáveis.

Em relação às espécies de fungos nematófagos, o levantamento apontou que as pesquisas internacionais estudaram a interação de 189 espécies de fungos nematófagos com nematoides do gênero *Meloidogyne*. As espécies que foram estudadas com maior frequência como tratamento, ou encontradas em levantamentos foram expressas na FIGURA 6.

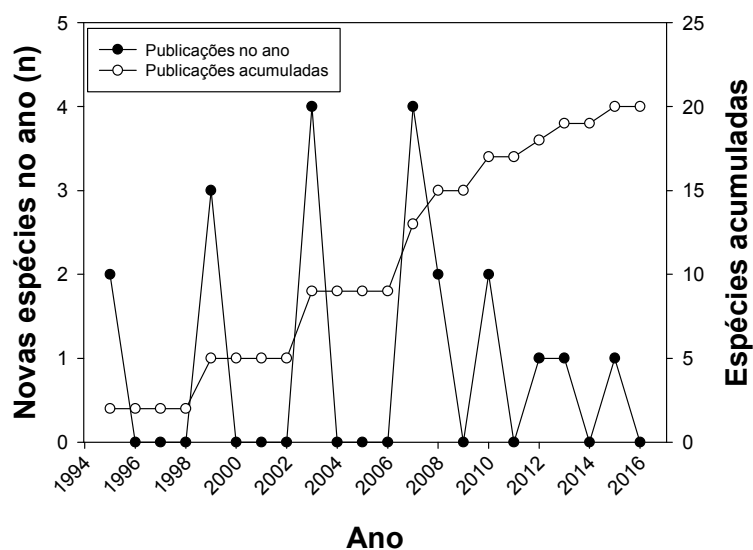


FIGURA 5 - NÚMERO DE NOVAS ESPÉCIES E TOTAL ACUMULADO DE ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ESTUDADOS NO BRASIL SEGUNDO O LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1995 E 2016.

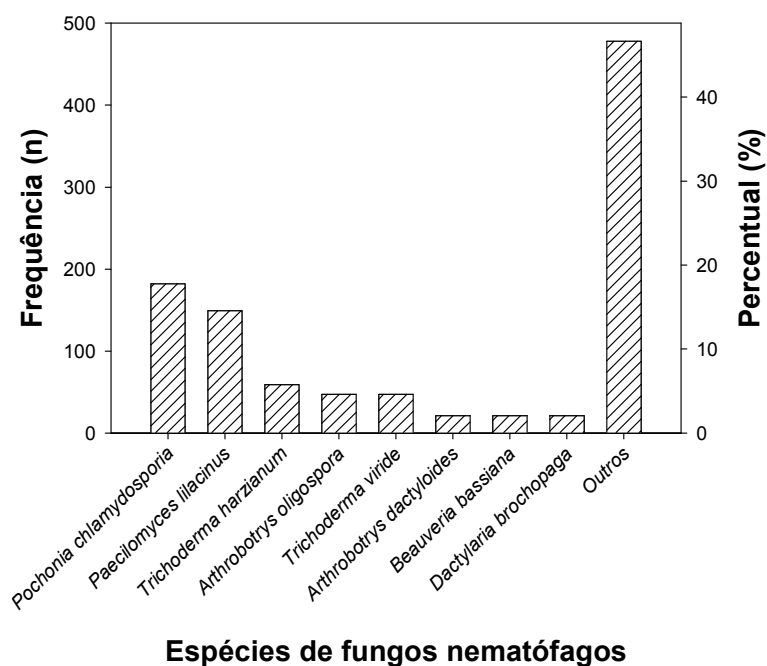


FIGURA 6 - ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO MUNDIAL SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

Entre as principais espécies de fungos nematófagos estudadas mundialmente, foram observadas 8 espécies com maior frequência, distribuídas em 6 gêneros. A espécie mais estudada até o momento é a *Pochonia chlamydosporia*.

Este fungo nematófago facultativo é caracterizado pelo parasitismo de ovos e fêmeas sedentárias de importantes nematoides fitopatogênicos (MUKHTAR; PERVAZ, 2003). A maneira de aplicação mais eficiente de *P. chlamydosporia* no solo são os clamidósporos (KERRY, 2000), que ao germinarem emitem micélio que coloniza as raízes e as massas de ovos (BORDALLO et al., 2002; HIRSCH et al., 2001; MANZANILLA-LOPEZ et al., 2013). A aplicação também pode ser realizada anterior ao plantio das culturas, permitindo ao fungo colonizar a matéria orgânica e os ovos de nematoides dispersos pelo solo (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2008). O hábito endofítico de *P. chlamydosporia* também pode promover o desenvolvimento da planta (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2015) e induzir a resistência contra outros patógenos (BORDALLO et al., 2002; MANZANILLA-LOPEZ et al., 2013).

Na segunda posição entre as espécies de fungos nematófagos mais estudados está o fungo *Paecilomyces lilacinus* é um parasita facultativo das fases sedentárias de diversas espécies de nematoides (CADIOLI et al., 2007; KHAN; WILLIAMS; NEVALAINEN, 2006). Espécies pertencentes ao gênero *Trichoderma* Pers (1794) ocupam a terceira e quinta colocação entre os fungos nematófagos mais pesquisados pelos nematologistas. As espécies desse gênero podem atuar de duas maneiras para o controle biológico dos nematoides: por meio da interação direta entre o fungo e os nematoides, principalmente por meio do parasitismo dos ovos ou por meio da indução de resistência (SAHEBANI; HADAVI, 2008). Alguns isolados de *Trichoderma* também podem atuar como promotores de crescimento (INBAR et al., 1994).

Espécies de *Trichoderma* são capazes de reduzir a população de nematoides, promover o desenvolvimento das plantas (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016) e induzir as defesas da planta (SAHEBANI; HADAVI, 2008). Entretanto, a compatibilidade entre hospedeiro e substrato é necessária para o estabelecimento adequado do fungo, e assim garantindo a maior eficiência possível (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016).

Diversos produtos comerciais, nas mais diversas formulações a base de *Trichoderma* spp. estão disponíveis no mercado. Esses produtos não são necessariamente específicos para o controle de nematoides, mas sim para utilização no manejo de diversas doenças de plantas. Trabalhos recentes apontam que a aplicação de suspensões de esporos de *Trichoderma harzianum* Rifai., 1969 e

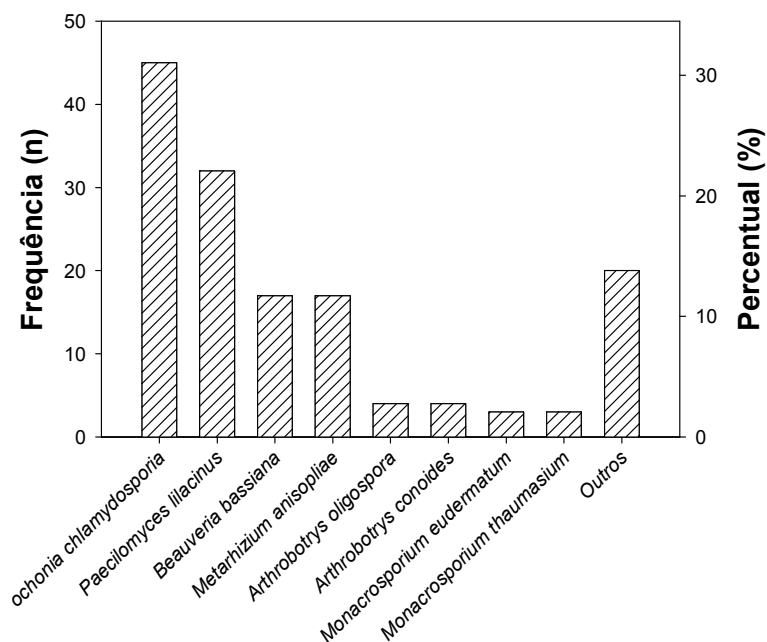
Trichoderma viride Pers., 1794 suprimiu a reprodução de nematóides e o número de galhas nas raízes, além de promover o crescimento de tomateiros (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016)

As espécies de fungos predadores do gênero *Arthrobotrys* Corda, 1839 ocupam a quarta e a sexta colocação entre os fungos mais estudados. As espécies deste gênero são caracterizadas por produzirem estruturas de predação adesivas ou não (KERRY, 2000). A espécie *Arthrobotrys oligospora* Fresen, 1850 forma uma típica rede de armadilhas adesivas, formadas por uma aglomeração de inúmeros anéis com três células (NORDBRING-HERTZ, 2004). Os anéis de *A. oligospora* são originados de uma hifa primária, originando uma hifa secundária com três células. A hifa secundária dobra-se em direção a hifa primária, onde ocorre anastomose, originando um anel fechado, que mesmo incompleto adere à hifa ao nematoide devido às substâncias adesivas produzidas pelo fungo (NORDBRING-HERTZ, 2004). As armadilhas podem ser formadas imediatamente após a germinação dos conídios de *Arthrobotrys* spp.

A espécie *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv., 1836) Vuill., 1912 é bastante conhecida por ser utilizada no controle biológico de insetos. Entretanto, o efeito desse fungo sobre os nematoides é devido à síntese de inúmeras toxinas (LIU et al., 2008). Outra espécie de fungo predador frequentemente estudada em âmbito internacional é a espécie *Dactylaria brochopaga* Drechsler., 1937. A característica principal dessa espécie é produzir anéis constritores com três células (KUMAR; SINGH, 2011). Anéis constritivos de *D. brochopaga* agem de maneira ativa. No entanto, os anéis permaneceram passivos e tornaram-se ativos resultando na inflação das células do anel. A inflação das células é devida o atrito do nematoide que se move pelo interior do anel (SINGH; BANDYOPADHYAY, 2001).

No cenário brasileiro (FIGURA 7), as espécies *P. chlamydosporia*, *P. lilacinus*, *B. bassiana* e *A. oligospora* são frequentemente estudadas. O gênero *Trichoderma* não é expressivo nas pesquisas brasileiras para o controle de nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. Entretanto, os fungos dos gêneros *Metarhizium* Metschn., 1879 e *Monacrosporium* Oudem., 1885 tem sido frequentemente estudados no Brasil. As espécies de fungo do gênero *Metarhizium* geralmente são utilizadas para o controle de insetos pragas. Entretanto, isolados de *Metarhizium* apresentam potencial para o controle de nematoides das galhas (SUN et al., 2006). Os fungos predadores do gênero *Monacrosporium* são caracterizados por produzirem vesículas adesivas ou

redes de hifas adesivas capazes de capturar nematoides móveis (KHAN; WILLIAMS; NEVALAINEN, 2006).



Espécies de fungos nematófagos

FIGURA 7 - ESPÉCIES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

Atualmente no Brasil há registro de alguns produtos para o controle de pragas e doenças a base de fungos (TABELA 1). As espécies de fungos, *Aspergillus flavus* Link., 1809, *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* Metschn., 1879, *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg 1999, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma stromaticum* Samuels & Pardo-Schulth., 2000, *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia* estão disponíveis comercialmente para utilização no controle de pragas e doenças de algumas culturas. Entretanto somente *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia* possuem registro específico para controle de *M. incognita* e *M. javanica*, respectivamente (BRASIL, 2017).

TABELA 1 - LISTA DE FUNGOS UTILIZADOS PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE DIVERSAS DOENÇAS DE PLANTAS COM REGISTRO NO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. DADOS DISPONÍVEIS NO BANCO DE DADOS DE ACESSO LIVRE DO AGROFIT.

Nome comum	Grupo químico	Classe	Alvo	Cultura	Quant.*
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 21882	Biológico	Fungicida microbiológico	<i>Aspergillus flavus</i>	Amendoim	1
<i>Beauveria bassiana</i>	Biológico	Fungicida microbiológico	<i>Bemisia tabaci</i> raça B <i>Dalbulus maidis</i> <i>Tetranychus urticae</i> <i>Cosmopolites sordidus</i> <i>Hypothenemus hampei</i> <i>Gonipterus scutellatus</i> <i>Diaphorina citri</i> <i>Hedypathes betulinus</i>	Todas as culturas Citros Erva-mate	9
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Biológico	Inseticida Microbiológico	<i>Zulia entreriana</i> <i>Mahanarva fimbriolata</i> <i>Deois flavopicta</i> <i>Notozulia entreriana</i>	Todas as culturas Pastagens	18
<i>Trichoderma asperellum</i>	Biológico	Fungicida microbiológico	<i>Rhizoctonia solani</i> <i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>phaseoli</i> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>glycines</i>	Algodão e Feijão Feijão Feijão e Soja Soja	3
<i>Trichoderma harzianum</i>	Biológico	Fungicida microbiológico	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Rhizoctonia solani</i> <i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>phaseoli</i>	Todas as culturas Feijão	4
<i>Trichoderma stromaticum</i>	Biológico	Fungicida microbiológico	<i>Monilophthora perniciosa</i>	Cacau	1
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Produto Biológico	Nematicida Microbiológico	<i>Meloidogyne incognita</i>	Todas as culturas	1
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Produto Biológico	Nematicida Microbiológico	<i>Meloidogyne javanica</i>	Todas as culturas	1

*Quant. = quantidade de produtos disponíveis para comercialização. FONTE: BRASIL, 2017.

No Brasil há dois registros de produtos biológicos a base de fungos para o controle de nematoides. Dessa forma, há a possibilidade de ocorrer o desenvolvimento de pesquisas específicas no estudo do potencial dos produtos a base de fungos já existentes no mercado para o controle de nematoides. O desenvolvimento desses estudos permitirá conhecer a interação desses produtos com outros agentes fitopatogênicos, além daqueles para o qual foram registrados inicialmente. Deste modo, o aumento do espectro de agentes fitopatogênicos alvo pode se tornar algo atrativo ao produtor rural, favorecendo o comércio de produtos para o controle biológico.

O número restrito de produtos a base de fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp. é afunilada para algumas espécies de *Meloidogyne* (FIGURA 8). Dentre as 189 espécies de fungos nematófagos pesquisadas no mundo todo, somente 9 espécies de *Meloidogyne* foram alvo das pesquisas. Com mais de 53% das 1037 ocorrências, *M. incognita* foi a espécie mais estudada, seguida por *M. javanica* com 23%. As espécies *M. incognita* e *M. javanica* são as mais frequentes em regiões tropicais, e muitas culturas agrícolas podem ser hospedeiras para essas espécies (ANWAR; MCKENRY, 2010). Entretanto, outras espécies de *Meloidogyne* têm se tornado problema para determinadas culturas, das quais são prejudicadas devido à carência de informações. Como exemplo dessa carência, é possível citar a espécie de nematoide *Meloidogyne marylandi* Jepson & Golden, 1987, qual apresenta somente um único trabalho, onde foi avaliada a interação entre o nematoide, a espécie de fungo *P. lilacinus* em gramados de *Cynodon dactylon* (Linnaeus., 1753) Persoon, 1805 (STARR et al., 2007).

No cenário brasileiro, as espécies *M. javanica* e *M. incognita* representam cerca de 54 e 39% das ocorrências, respectivamente (FIGURA 9). Contrariando o cenário internacional, *M. javanica* supera em ocorrências de *M. incognita*. A importância destas espécies para a agricultura brasileira justifica esses números. Entretanto, as espécies *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 e *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback, 1983, representaram cerca de 6 e 1% das ocorrências, respectivamente. Essas espécies não são amplamente distribuídas da mesma forma que *M. incognita* e *M. javanica*, sendo relatadas em algumas regiões e culturas. Poucos estudos foram feitos com essas espécies de nematoides, e ainda conhecemos muito pouco sobre o potencial de controle por fungos nematófagos. Assim, há a possibilidade de desenvolvimento de pesquisas para o controle de

nematoides de menor importância, dos quais vem aumentando sua distribuição com o passar dos anos.

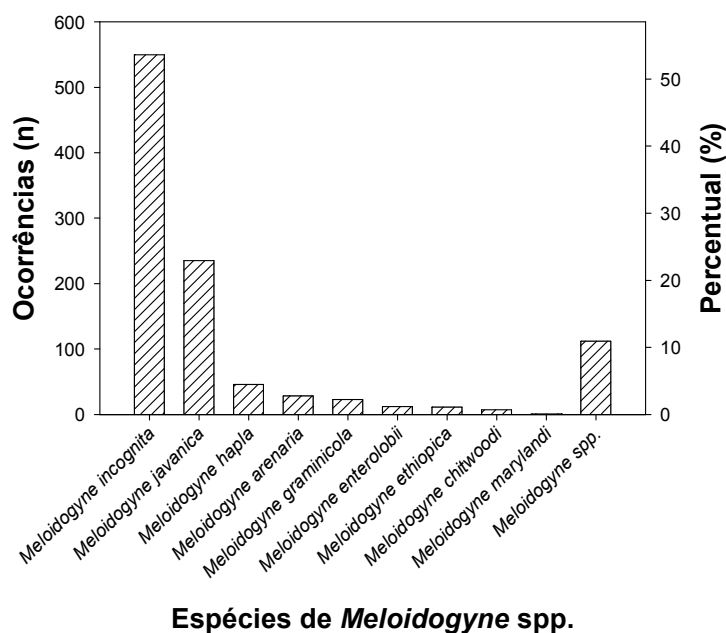


FIGURA 8 - ESPÉCIES DE NEMATOIDES DO GÊNERO *Meloidogyne* MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO MUNDIAL SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

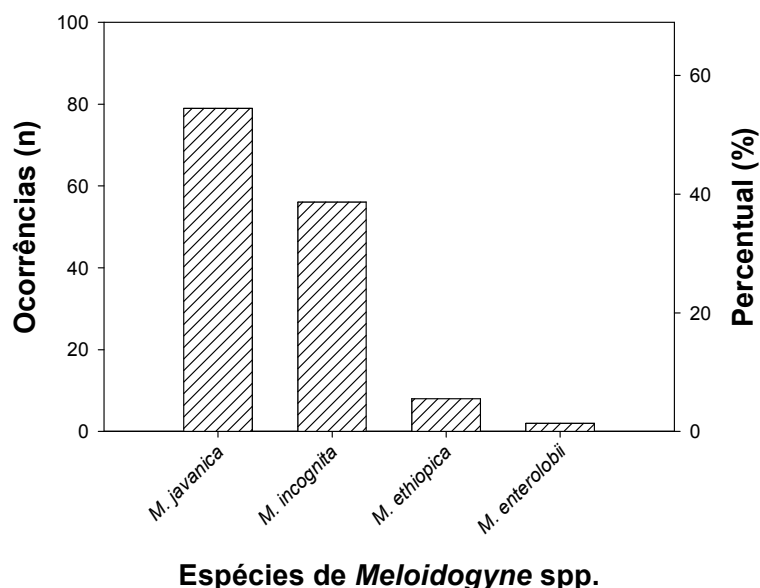


FIGURA 9 - ESPÉCIES DE NEMATOIDES DO GÊNERO *Meloidogyne* MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

O levantamento dos experimentos que foram conduzidos nas condições *in vitro* e *in vivo* foram expressos na FIGURA 10. No cenário internacional e nacional,

houve a predominância de estudos com fungos nematófagos realizados na condição *in vivo*. No cenário internacional, cerca de 29% das ocorrências foram realizadas em condições *in vitro*, enquanto 71% das ocorrências foram realizadas em condições *in vivo*. Para as publicações brasileiras foi observado que somente 11% das ocorrências foram realizadas em condições *in vitro*, enquanto as 89% de ocorrências restantes foram realizadas em condições *in vivo*.

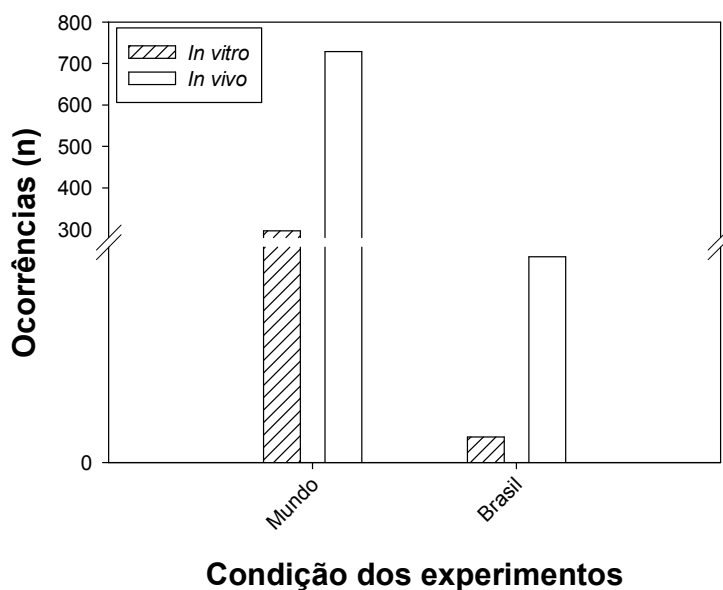


FIGURA 10 - CONDIÇÃO DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS NO CENÁRIO INTERNACIONAL E BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 À 2016.

Os experimentos *in vivo* apresentam resultados muito mais próximos da real relação dos fungos nematófagos com os nematoides em condições de campo. No campo, os ovos que são a principal fonte de inóculo estão protegidos e agregados por uma matriz gelatinosa (ORION et al., 2001) composta por glicoproteínas aglutinantes (SHARON; SPIEGEL, 1993). A matriz gelatinosa tem função protetora contra predadores e antagonistas, mas métodos de extração de nematoides que utilizam hipoclorito de sódio (NaClO) retiram essa proteção (ORION et al., 2001). Nas condições de testes *in vitro*, a retirada da matriz gelatinosa pela extração para a obtenção da suspensão de nematoides, gera uma maior exposição dos nematoides aos tratamentos, fator que mascara e/ou superestima a eficiência dos tratamentos.

As principais plantas hospedeiras estudadas nos trabalhos levantados estão reunidas na FIGURA 11. No gráfico é possível observar a preocupação existente na

necessidade de controlar os nematoides das galhas em plantas da família Solanaceae. Essa família de plantas compreende cerca de três a quatro mil espécies de plantas distribuídas em 93 gêneros. O mais importante desses gêneros é sem dúvida o gênero *Solanum*, do qual está incluído o tomate (*Solanum lycopersicum* - 23%), batata (*Solanum tuberosum* - 2%) e a berinjela (*Solanum melongena* Linnaeus., 1753 - 5%). Ainda nessa família estão incluídas as pimentas do gênero *Capsicum* Linnaeus., 1753, mais especificamente os pimentões (*Capsicum annuum* Linnaeus., 1753 - 3%) (BARBARY et al., 2015).

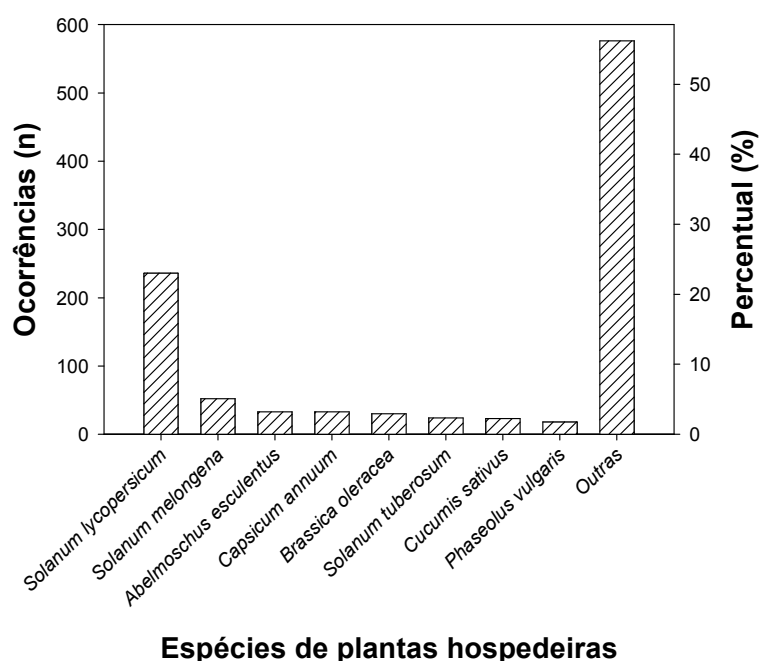


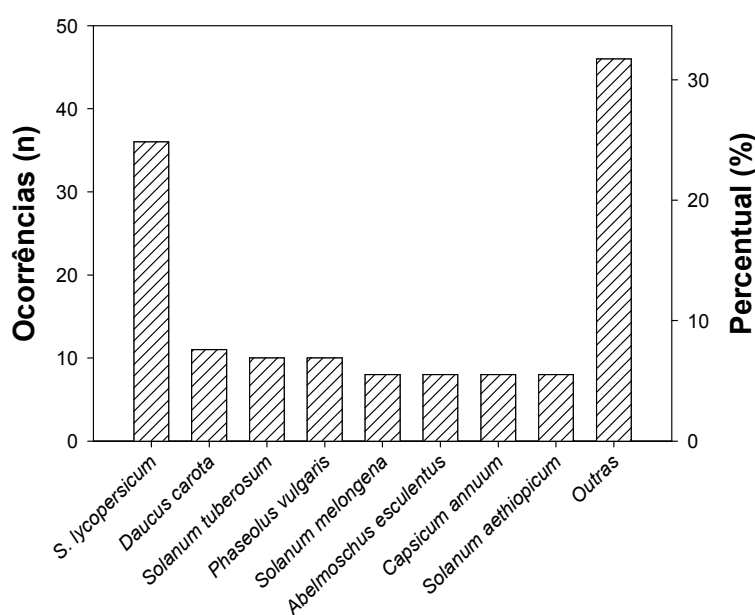
FIGURA 11 - ESPÉCIES DE PLANTAS HOSPEDEIRAS DE *Meloidogyne* UTILIZADAS NOS ESTUDOS *in vivo* MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO MUNDIAL SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 A 2016.

Para os estudos realizados em condições *in vivo*, o tomateiro foi à planta hospedeira de *Meloidogyne* spp. mais estudada nos trabalhos em âmbito internacional. Em geral, as plantas de tomateiro apresentam alta suscetibilidade a diversas espécies de nematoides das galhas. Considerado com hospedeiro universal para *Meloidogyne* spp. (SEID et al., 2015), as plantas de tomateiro são utilizadas na manutenção e multiplicação do inóculo para os experimentos.

Outras plantas como o quiabo (*Abelmoschus esculentus* (Linnaeus., 1753) Moench., 1794 - 3%), couves e repolhos (*Brassica oleracea* Linnaeus., 1753 - 3%), pepinos (*Cucumis sativus* Linnaeus., 1753 - 2%) e feijão (*Phaseolus vulgaris*

Linnaeus, 1753 - 2%) também são severamente parasitadas por *Meloidogyne* spp. O exemplo disso é o quiabeiro, sendo severamente parasitado por nematoides das galhas, que é considerado o patógeno mais severo e economicamente importante para a cultura (MUKHTAR et al., 2013).

Para o cenário brasileiro (FIGURA 12), as plantas de tomate (*S. lycopersicum* - 25%), batata (*S. tuberosum* - 7%), feijão (*Phaseolus vulgaris* - 7%), berinjela (*S. melongena* - 6%), pimentões (*C. annuum* - 6%) e quiabo (*A. esculentus* - 6%) são as hospedeiras mais frequentes, acompanhando o cenário internacional. Entretanto, a cenoura (*Daucus carota* Linnaeus, 1753 - 8%) e jiló (*Solanum aethiopicum* Linnaeus, 1753 - 6%) se destacam entre as plantas mais estudadas. Mesmo sendo pertencente ao gênero *Solanum*, o jiló é referido como resistente à *Meloidogyne* spp. (DHIVYA; SADASAKTHI; SIVAKUMAR, 2014). A cenoura sofre grandes deformidades e perdas devidas à *Meloidogyne* spp. (WESEMAEL; MOENS, 2008).



Espécies de plantas hospedeiras

FIGURA 12 - ESPÉCIES DE PLANTAS HOSPEDEIRAS DE *Meloidogyne* UTILIZADAS NOS ESTUDOS *in vivo* MAIS ESTUDADAS NO CENÁRIO BRASILEIRO SEGUNDO OS DADOS OBTIDOS NO LEVANTAMENTO DE PUBLICAÇÕES REALIZADO NAS BASES CAB ABSTRACT E WEB OF SCIENCE ENTRE OS ANOS DE 1976 E 2016.

Os estudos sobre a relação fungo nematófago, nematoide e planta hospedeira são necessários para traçar estratégias de manejo. Com a procura por novos métodos de controle de nematoides menos agressivos ao meio ambiente e a saúde humana, certamente a quantidade conhecida de espécies de fungos nematófagos continuará aumentando. Da mesma forma, outras espécies de

nematoides deverão ser estudadas de maneira mais aprofundada, de modo à elucidar as interações com as espécies de fungos nematófagos.

Conhecer o estado da arte da pesquisa científica referente ao controle de *Meloidogyne* spp. por fungos nematófagos permite conhecer as deficiências e demandas da produção científica internacional e nacional. A Índia, como maior produtora de publicações com fungos nematófagos, em 2015 possuía no mercado inúmeros produtos a base de fungos nematófagos para o controle de nematoides. Estavam disponíveis, seis diferentes marcas de produtos a base de *P. lilacinus* (ASKARY, 2016). No Brasil, atualmente existe um registro.

Para as 189 espécies de fungos nematófagos conhecidas com potencial para o controle de *Meloidogyne* spp. há também a necessidade de focar em estudos para a eficiência, produção massal, industrialização, armazenamento, distribuição, implementação e publicidade (GLARE et al., 2012). A possibilidade de expansão das pesquisas científica para essas áreas do conhecimento pouco exploradas irá subsidiar a ampliação da produção e utilização dos fungos nematófagos.

3.4 CONCLUSÕES

- i. A Índia é o país com maior produção de trabalhos com fungos nematófagos, seguida pelo Brasil.
- ii. As publicações mundiais iniciaram em 1976, apresentando picos na década de 1990, e pós 2000. As pesquisas brasileiras iniciaram em 1995, e tiveram comportamento temporal semelhante ao cenário internacional.
- iii. Novos fungos nematófagos foram inseridos no cenário internacional e nacional com maior frequência na década de 1990 e pós 2000.
- iv. O fungo nematófago mais estudado no Brasil e no mundo é *Pochonia chlamydosporia*.
- v. A espécie de nematoide alvo mais frequente nas pesquisas internacionais foi a espécie *Meloidogyne incognita*. No Brasil as pesquisas foram focadas em *Meloidogyne javanica*.
- vi. Experimentos *in vivo* foram os mais frequentes no Brasil e no mundo;
- vii. O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é a espécie de planta hospedeira mais estudada nos estudos com fungos nematófagos no Brasil e no mundo.

REFERÊNCIAS

AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 2, p. 288-292, 2016.

ANWAR, S. A.; MCKENRY, M. V. Incidence and reproduction of *Meloidogyne incognita* on vegetable crop genotypes. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 42, n. 2, p. 135-141, 2010.

ASKARY, T. H. Nematophagous fungi as biocontrol agents of phytonematodes. In: ASKARY, T. H.; MARTINELLI, P. R. P. (Ed.). **Biocontrol agents of phytonematodes**. 1. ed. p. 81-125. 2015.

BARBARY, A.; DJIAN-CAPORALINO, C.; PALLOIX, A.; CASTAGNONE-SERENO, P. Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in Solanaceae: From genes to the field. **Pest Management Science**, v. 71, n. 12, p. 1591-1598, 2015.

BLACKWELL, M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? **American Journal of Botany**, v. 98, n. 3, p. 426-438, 2011.

BORDALLO, J. J.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; PERSMARK, L.; ASENSIO, L. Colonization of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. **New Phytologist**, v. 154, n. 2, p. 491-499, 2002.

BRASIL. **SISTEMA Agrofit**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 7 jul. 2017.

CADIOLI, M. C.; SANTIAGO, D. C.; HOSHINO, A. T.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne*

paranaensis em diferentes temperaturas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 305-311, 2007.

CAILLAUD, M. C.; DUBREUIL, G.; QUENTIN, M.; PERFUS-BARBEOCH, L.; LECOMTE, P.; DE ALMEIDA ENGLER, J.; ABAD, P.; ROSSO, M. N.; FAVERY, B. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 1, p. 104-113, 2008.

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. **Heredity**, v. 96, n. 4, p. 282-289, 2006.

CEE - COMUNIDADE ECONÔMICA EUROPÉIA. Directiva do Conselho 91/414/CEE. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**, p. 1-32, 15 jul. 1991.

CHEN, Z. L.; DONG, F. S.; XU, J.; LIU, X. G.; ZHENG, Y. Q. Management of pesticide residues in China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, n. 11, p. 2319-2327, 2015.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G. DE; LOPES, E. A.; SILVA, M. D. C. S. Da; KASUYA, M. C. M.; FERRAZ, S. *Pochonia chlamydosporia* promotes the growth of tomato and lettuce plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 4, p. 417-423, 2015.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; NEVES, W. S.; EVERALDO, A. Efeito da concentração de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* var . *chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 327-332, 2008.

DHIVYA, R.; SADASAKTHI, A.; SIVAKUMAR, M. Response of wild Solanum rootstocks to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Kofoid and White). **International Journal of Plant Sciences (Muzaffarnagar)**, v. 9, n. 1, p. 117-122, 2014.

EAPEN, S. J.; BEENA, B.; RAMANA, K. V. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 88, n. 3, p. 218-225, 2005.

FIELDS, P. G.; WHITE, N. D. Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects. **Annual Review of Entomology**, v. 47, n.1, p. 331-359, 2002.

GEBARA, A. B.; CISCATO, C. H. P.; FERREIRA, M. D. S.; MONTEIRO, S. H. Pesticide residues in vegetables and fruits monitored in São Paulo city, Brazil, 1994-2001. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 75, n. 1, p. 163-169, 2005.

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERTNER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; MARRONE, P.; MORIN, L.; STEWART, A. Have biopesticides come of age? **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250-258, 2012.

HIRSCH, P. R.; ATKINS, S. D.; MAUCHLINE, T. H.; MORTON, C. O.; G, K. Methods for studying the nematophagous fungus. **Plant and Soil**, p. 21-30, 2001.

HUANG, W. K.; SUN, J. H.; CUI, J. K.; WANG, G. F.; KONG, L. A.; PENG, H.; CHEN, S. L.; PENG, D. L. Efficacy evaluation of fungus *Syncephalastrum racemosum* and nematicide avermectin against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on cucumber. **Plos One**, v. 9, n. 2, p. 1 - 6, 2014.

INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; COHEN, D.; CHET, I. Plant-growth enhancement and disease-control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 100, n. 5, p. 337-346, 1994.

JANG, J. Y.; CHOI, Y. H.; SHIN, T. S.; KIM, T. H.; SHIN, K. S.; PARK, H. W.; KIM, Y. H.; KIM, H.; CHOI, G. J.; JANG, K. S.; CHA, B.; KIM, I. S.; MYUNG, E. J.; KIM, J. C. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Aspergillus niger* F22 producing oxalic acid. **Plos One**, v. 11, n. 6, p. 1-15, 2016.

KATZ, J. M.; WINTER, C. K. Comparison of pesticide exposure from consumption of domestic and imported fruits and vegetables. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 2, p. 335-338, 2009.

KERRY, B. R. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 38, n. 1, p. 423 - 441, 2000.

KHAN, A.; WILLIAMS, K. L.; NEVALAINEN, H. K. M. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. **Biocontrol**, v. 51, n. 5, p. 659-678, 2006.

KOK, C. J. H.; PAPERT, A.; HOK-A-HIN, C. H. C. Microflora of *Meloidogyne* egg masses: species composition, population density and effect on the biocontrol agent *Verticillium chlamyosporium* (Goddard). **Nematology**, v. 3, n. 8, p. 729-734, 2001.

KUMAR, N.; SINGH, K. P. Use of *Dactylaria brochopaga*, a predacious fungus, for managing root-knot disease of wheat (*Triticum aestivum*) caused by *Meloidogyne graminicola*. **Mycobiology**, v. 39, n. 2, p. 113-117, 2011.

LIU, T.; WANG, L.; DUAN, Y. X.; WANG, X. Nematicidal activity of culture filtrate of *Beauveria bassiana* against *Meloidogyne hapla*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 113-118, 2008.

MANZANILLA-LOPEZ, R. H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M. M.; HIRSCH, P. R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DIAZ, L. *Pochonia chlamyosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 45, n. 1, p. 1-7, 2013.

MUKHTAR, T.; ARSHAD, I.; KAYANI, M. Z.; HUSSAIN, M. A.; KAYANI, S. B.; RAHOO, A. M.; ASHFAQ, M. Estimation of damage to okra (*Abelmoschus esculentus*) by root-knot disease incited by *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 3, p. 1023-1027, 2013.

MUKHTAR, T.; PERVAZ, I. *In vitro* evaluation of ovicidal and larvicidal effects of culture filtrate of *Verticillium chlamyosporium* against *Meloidogyne javanica*. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 5, n. 4, p. 576-579, 2003.

NORDBRING-HERTZ, B. Morphogenesis in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* - an extensive plasticity of infection structures. **Mycologist**, v. 18, n. 3, p. 125-133, 2004.

ORION, D.; KRITZMAN, G.; MEYER, S. L.; ERBE, E. F.; CHITWOOD, D. J. A Role of the gelatinous matrix in the resistance of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) eggs to microorganisms. **Journal of Nematology**, v. 33, n. 4, p. 203-207, 2001.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2016-2020, 2008.

SAXENA, G. Observations on the occurrence of nematophagous fungi in Scotland. **Applied Soil Ecology**, v. 39, n. 3, p. 352-357, 2008.

SEID, A.; FININSA, C.; MEKETE, T.; DECRAEMER, W.; WESEMAEL, W. M. L. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) - a century-old battle. **Nematology**, v. 17, n. 9, p. 995-1009, 2015.

SHARON, E.; SPIEGEL, Y. Glycoprotein characterization of the gelatinous matrix in the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 25, n. 4, p. 585-589, 1993.

SINGH, K. P.; BANDYOPADHYAY, P. Induction of trapping rings and assessment of predacity of *Dactylaria brochopaga* against some plant parasitic nematodes. **Indian Phytopathology**, v. 54, n. 2, p. 233-239, 2001.

STARR, J. L.; ONG, K. L.; HUDDLESTON, M.; HANDOO, Z. A. Control of *Meloidogyne marylandi* on Bermudagrass. **Nematropica**, v. 37, n. 1, p. 43-50, 2007.

SUN, M. H.; GAO, L.; SHI, Y. X.; LI, B. J.; LIU, X. Z. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 93, n. 1, p. 22-28, 2006.

TEAP - TECHNOLOGY AND ECONOMIC ASSESSMENT PANEL. **Montreal Protocol - On Substances that Deplete the Ozone Layer**. Nairobi, Kenya: Unep Nairobi, Ozone Secretariat, 1998. 300 p. Disponível em: <<https://wedocs.unep.org/rest/bitstreams/13382/retrieve>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

TRUDGILL, D. L.; BLOK, V. C. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: Exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, n. 1, p. 53-77, 2001.

WESEMAEL, W.; MOENS, M. Quality damage on carrots (*Daucus carota* L.) caused by the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi*. **Nematology**, v. 10, n. 2, p. 261-270, 2008.

XIE, H.; YAN, D.; MAO, L.; WANG, Q.; LI, Y.; OUYANG, C.; GUO, M.; CAO, A. Evaluation of methyl bromide alternatives efficacy against soil-borne pathogens, nematodes and soil microbial community. **Plos One**, v.10, n.2, p. e0117980, 2015.

YANG, Y.; YANG, E.; AN, Z.; LIU, X. Evolution of nematode-trapping cells of predatory fungi of the Orbiliaceae based on evidence from rRNA-encoding DNA and multiprotein sequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 20, p. 8379-8384, 2007.

ZUCKERMAN, B. M.; ESNARD, J. Biological control of plant nematodes -current status and hypotheses. **Japanese Journal of Nematology**, v. 24, n. 1, p. 1-13, 1994.

Capítulo II

COGUMELOS NO CONTROLE ALTERNATIVO DE *Meloidogyne javanica*

4 CAPÍTULO II - COGUMELOS NO CONTROLE ALTERNATIVO DE *Meloidogyne javanica*

RESUMO

A cultura do tomateiro é uma olerícola de grande importância econômica, entretanto é extremamente afetada pelos nematoides do gênero *Meloidogyne*, que causam perdas significativas na produção. O controle desses nematoides pode ser realizado utilizando fungos nematófagos. Alguns desses fungos nematófagos são cogumelos, dos quais o resíduo de produção tem potencial para o controle de nematoides. Com base no exposto, os objetivos para a realização deste estudo foram: i) analisar o potencial ovicida, nematicida e nematostático dos metabólitos retidos no meio de cultivo líquido de cogumelos sobre *Meloidogyne javanica*; ii) analisar o potencial ovicida, nematicida e nematostático do extrato aquoso de substratos de cultivo de espécies de cogumelos sobre *M. javanica*; iii) analisar a interação do micélio dos cogumelos com *M. javanica*. Foram testados 24 isolados de cogumelos distribuídos em 15 diferentes espécies, sendo cultivados em meio líquido e serragem, e posteriormente utilizados seus respectivos filtrados e extratos como tratamentos para *Meloidogyne javanica*. Foram testadas a eclosão, motilidade e mortalidade, bem como o confronto direto em placas de Petri contendo o micélio fúngico e os juvenis de *M. javanica*. As testemunhas foram compostas por água destilada ou meio de cultura inerte. A análise estatística foi realizada utilizando o teste de qui-quadrado, comparando as frequências dos tratamentos com as testemunhas. Dentre os filtrados testados, somente *Polyporus udus* não reduziu a eclosão de *M. javanica*. Os extratos obtidos de *Coprinus comatus*, *Ganoderma orbiforme*, *Oudemansiella canarii* (LEMID-Oca02), *Pleurotus pulmonarius* (LEMID-Ppu01), *Pycnoporus sanguineus* (LEMID-Psa02) e *Polyporus udus* não reduziram a eclosão. O filtrado incapaz de causar a imobilização dos nematoides foi proveniente do isolado de *O. canarii* (LEMID-Oca01). Os filtrados obtidos de *Pleurotus djamor* (LEMID-Pdj02), *P. udus* e *O. canarii* (LEMID-Oca01) não causaram a mortalidade dos juvenis. Os extratos obtidos do substrato de *O. canarii* (LEMID-Oca01), *P. djamor* (LEMID-Pdj02) e *P. sanguineus* (LEMID-Psa02) não causaram a imobilização e a morte dos juvenis de *M. javanica*. A mortalidade dos juvenis de *M. javanica* também não foi observada nos extratos obtidos do substrato de *C. comatus*, *G. orbiforme* (LEMID-Gor01), *Lentinus* sp. (LEMID-Lsp01), *Pleurotus eryngii* (LEMID-Per02) e *O. canarii* (LEMID-Oca02). Foi observada a imobilização dos nematoides no período de uma hora nas culturas regeneradas de *G. orbiforme*, *Lentinula edodes*, *Macrocybe titans*, *P. djamor* (LEMID-Pdj02), *P. eryngii* (LEMID-Per01) e *P. udus* em meio com 50% de BDA. Os isolados de *M. titans* (LEMID-Mti01), *P. eryngii* (LEMID-Per01) e *L. edodes* (LEMID-Led01 e LEMID-Led02) apresentaram potencial de controle de *M. javanica* na maioria dos testes realizados.

Palavras-chave: Basidiomicetos. Imobilização. Fungo nematófago.

CHAPTER II - MUSHROOMS ON THE ALTERNATIVE CONTROL OF *Meloidogyne javanica*

ABSTRACT

The tomato is a vegetable crop of great economic importance in the world; however, it is extremely affected by nematodes of the genus *Meloidogyne*, which causes significant losses in production. Control of this nematode genus can be performed using nematophagous fungi. Some of the nematophagous fungi are mushrooms, from which the production residue has the potential to control nematodes. Based on the above, the objectives for this study were: i) to analyze the ovicidal, nematostatic and nematicidal potential of the filtrates of the liquid mushroom culture medium on *Meloidogyne javanica*; ii) to analyze the ovicidal, nematostatic and nematicidal potential of the aqueous extract of culture substrates of mushrooms; iii) to analyze the interaction of the mushrooms mycelium with *M. javanica*. Twenty four isolates of mushrooms distributed in 15 different species cultivated in liquid medium and sawdust were tested, and their filtrates and extracts were then used as treatment for *Meloidogyne javanica*. Hatch, motility and mortality were tested as well as direct challenge in Petri dishes containing fungal mycelium and *M. javanica* juveniles. The control treatments were composed of distilled water or inert culture medium. Statistical analysis was performed using the chi-square test, comparing the frequencies of the treatments with control treatments. Among the filtrates tested, only *Polyporus udus* (LEMID-Pud01) did not reduce hatching of *M. javanica*. Extracts obtained from *Coprinus comatus* (LEMID-Cco01), *Ganoderma orbiforme* (LEMID-Gor01), *Oudemansiella canarii* (LEMID-Oca02), *Pleurotus pulmonarius* (LEMID-Ppu01), *Pycnoporus sanguineus* (LEMID-Psa02) and *Polyporus udus* (LEMID-Pud01) did not reduce hatching. The filtrate incapable of causing nematode immobilization came from the *O. canarii* isolate (LEMID-Oca01). The filtrates obtained from *Pleurotus djamor* (LEMID-Pdj02), *P. udus* (LEMID-Pud01) and *O. canarii* (LEMID-Oca01) did not cause juvenile mortality. Extracts obtained from the substrate of *O. canarii* (LEMID-Oca01), *P. djamor* (LEMID-Pdj02) and *P. sanguineus* (LEMID-Psa02) did not cause immobilization and death of *M. javanica* juveniles. *M. javanica* juveniles mortality was also not observed with the extracts obtained from the substrate of *C. comatus* (LEMID-Cco01), *G. orbiforme* (LEMID-Gor01), *Lentinus* sp. (LEMID-Lsp01), *Pleurotus eryngii* (LEMID-Per02) and *O. canarii* (LEMID-Oca02). Nematode immobilization was observed within one hour period in regenerated cultures of *G. orbiforme* (LEMID-Gor01), *Lentinula edodes* (LEMID-Led01 and LEMID-Led02), *Macrocybe titans* (LEMID-Mti01), *P. djamor* (LEMID-Pdj02), *P. eryngii* (LEMID-Per01) and *P. udus* in 50% PDA medium. The isolates of the *M. titans* (LEMID-Mti01), *P. eryngii* (LEMID-Per01) and *L. edodes* (LEMID-Led01 and LEMID-Led02) presented potential for *M. javanica* control in most of the tests performed.

Key words: Basidiomycetes. Immobilization. Nematophagous fungus.

4.1 INTRODUÇÃO

A produção brasileira de tomates em 2016 foi de cerca de 3,7 milhões de toneladas em cerca 58,6 mil ha (IBGE, 2017). Entretanto, pragas e doenças acometem essa cultura e ocasionando perdas na produção. As doenças de origem biótica incluem as doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. As doenças causadas por nematoides estão ganhando destaque devido sua dificuldade de controle, ampla gama de hospedeiros e distribuição mundial (AKHTAR, 1997). Os principais nematoides associados a doenças em plantas de tomateiro pertencem ao gênero *Meloidogyne* (NONO-WOMDIM et al., 2002). Dentre essas, as espécies *Meloidogyne javanica* Treub 1885 e *Meloidogyne incognita* Kofoid & White, 1919 são frequentes causadoras de perdas na cultura do tomate (BELAN et al., 2009).

Diversos métodos de controle têm sido recomendados para a cultura do tomateiro, tais como o controle químico, cultural, físico, biológico e genético (BARKER; KOENNING, 1998). O controle químico de nematoides é geralmente o método de controle mais utilizado, mas devido à agressividade dos nematicidas ao meio ambiente e a saúde humana estão sendo desenvolvidas novas medidas de controle de origem natural (LIU et al., 2016), as quais estão inseridas no contexto da agricultura sustentável (BRIDGE, 1996). Um sistema sustentável de produção se dá pela integração de diferentes métodos de controle. Para o controle de nematoides, Bridge (1996) definiu uma sequência de quatro estratégias, as quais estão inseridas as principais medidas de controle de nematoides para a agricultura sustentável. Inicialmente, a primeira estratégia inclui as medidas de controle baseadas na prevenção da introdução e disseminação dos nematoides. A segunda estratégia inclui as medidas de controle direto, tais como as medidas de controle com não-químicos (extratos vegetais), culturais (rotação de culturas e sistema de cultivo) e físicas (solarização). Na terceira estratégia estão as medidas de controle biológico que incentivam o desenvolvimento natural de agentes de controle pré-existentes no solo. As medidas dessa estratégia demandam de compreensão dos métodos de cultivo e da utilização adequada do solo. A quarta estratégia corresponde às medidas de controle que visam manter e aumentar a biodiversidade do solo em

sistemas tradicionais de cultivo (BRIDGE, 1996). A biodiversidade do solo pode ser ampliada pela inserção de agentes de controle externos, que incluem os fungos nematófagos.

Os fungos nematófagos são caracterizados por possuírem a habilidade de predação ou parasitar os nematoides (SIDDIQUI; MAHMOOD, 1996; LIU; XIANG; CHE, 2009). Alguns fungos produzem substâncias tóxicas que também podem ser utilizadas no controle de nematoides. Essas toxinas podem estar associadas ao processo de predação e parasitismo dos nematoides, como no caso dos fungos do gênero *Pleurotus*, onde pequenas vesículas liberam toxinas ao serem tocadas por nematoides (BARRON; THORN, 1987; TRUONG et al., 2007).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* são comestíveis, com alto valor nutricional, de fácil cultivo e pode ser produzidos em condições rústicas com temperaturas entre 25 e 30 °C (SCHMIDT et al., 2003). O cultivo pode ser realizado em diversos substratos orgânicos facilmente disponíveis (DONINI et al., 2005). Nas condições ideais, esse fungo apresenta rápido crescimento e alta eficiência biológica (conversão de substrato em cogumelos frescos) (ALANANBEH; BOUQELLAH; AL KAFF, 2014). Após a colheita dos basidiocarpos, o resíduo denominado como substrato exaurido é descartado (CORRÊA et al., 2016).

No caso de cogumelos caracterizados como fungos nematófagos, surge à possibilidade de utilizar os resíduos da produção comercial como maneira de inserir os nematófagos no solo. Estima-se que a produção mundial de cogumelos seja de aproximadamente 25 mil toneladas (PHAN; SABARATNAM, 2012), com uma produtividade aproximadamente de 1 kg de cogumelo fresco para cada 5 kg de substrato (WILLIAMS; MCMULLAN; MCCAHEY, 2001).

Espécies de cogumelos cultivadas ou nativas do Brasil podem apresentar potencial de controle de nematoides. Assim, existe a possibilidade de utilização do resíduo da produção de cogumelos ou a infestação de outros resíduos agrícolas para a colonização por cogumelos, e a conseqüente incorporação no solo para o manejo dos nematoides das galhas. Com base no exposto, os objetivos para a realização deste estudo foram: i) analisar o potencial nematicida e nematostático dos metabólitos retidos no meio de cultivo líquido de cogumelos sobre *M. javanica*; ii) analisar o potencial nematicida e nematostático do extrato aquoso de substratos de cultivo de espécies de cogumelos sobre *M. javanica* e iii) analisar a interação do micélio dos cogumelos e os juvenis de *M. javanica*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e isolamento de cogumelos

Os isolados de cogumelos utilizados neste trabalho foram obtidos de cultivos comerciais, de coletas a campo e fornecidas por outras instituições. As espécies utilizadas foram descritas na TABELA 1. Para os isolados obtidos de coletas a campo, o isolamento foi realizado pela deposição de um fragmento interno do basidiocarpo em placas de Petri com meio Batata, Dextrose e Ágar (BDA). A identificação consistiu na análise macroscópica e microscópica (WATLING, 1973; PUTZKE, 2002; SILVEIRA et al., 2008; MCADAM, 2009) até o nível de gênero para os isolados obtidos de coletas no campo. Os isolados obtidos de cultivos comerciais ou de outras instituições já haviam sido previamente identificados em nível de espécie.

Obtenção de populações de *M. javanica*

As populações de nematoides foram obtidas pela coleta de solo e raízes de tomateiros infestados com nematoides da espécie *M. javanica*. A identificação da espécie seguiu a metodologia de padrão perineal de fêmeas adultas, descrita por Taylor e Sasser (1978). A multiplicação das populações puras foi realizada infestando solo autoclavado a 120 °C em vasos de alumínio com 2 dm³ de capacidade utilizando plantas de tomateiro cv. Santa Clara (agosto de 2015 até março de 2016), pepino cv. Caipira (outubro de 2015 a março de 2016 e novembro de 2016 a janeiro de 2017) e cv. Super Marmande (junho de 2016 até janeiro de 2017). As plantas foram mantidas na casa de vegetação do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti da ADAPAR, no campus Agrárias da Universidade Federal do Paraná em Curitiba. Nos meses mais frios, as plantas de tomateiros foram mantidas em câmara de crescimento (Marca Instala Frio) com temperaturas entre 25 e 30 °C e umidade relativa entre 70% e 80%.

TABELA 1 - ISOLADOS DE COGUMELOS NATIVOS E EXÓTICOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO TESTADOS PARA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*. (continua)

Isolado	Espécie	Origem	Coleta do substrato
LEMID-Abi01	<i>Agaricus blazei</i> Murrill, 1945	Inóculo comercializado pela empresa Funghi & Flora, Valinhos - SP (grãos de trigo colonizados)	Frutificado
LEMID-Cco01	<i>Coprinus comatus</i> (O.F. Müll.) Pers., 1797	Isolado proveniente da coleção da UNESP, Botucatu - SP (CCO01)	Frutificado
LEMID-Gor01	<i>Ganoderma orbiforme</i> (Fr.) Ryvarden, 2000	Isolado proveniente da coleção da EMBRAPA, Colombo - PR (EF34)	Não frutificado
LEMID-Lbo01	<i>Lentinula boryana</i> (Berk. & Mont.) Pegler, 1976	Isolado proveniente da coleção da EMBRAPA, Colombo (EF47)	Não frutificado
LEMID-Led01	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Singer (1941)	Isolado proveniente da coleção da UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon - PR (SH01)	Não frutificado
LEMID-Led02	<i>Lentinula edodes</i>	Inóculo comercializado pela empresa Funghi & Flora Valinhos - SP (grãos de trigo colonizados)	Não frutificado
LEMID-Lsp01	<i>Lentinus</i> Fries. 1825	Coleta em tronco no Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba - PR (25°24'39.8"S 49°14'56.5"W)	Não frutificado
LEMID-Lsp02	<i>Lentinus</i> sp.	Coleta em tronco no Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba - PR (25°24'48.6"S 49°14'50.4"W)	Não frutificado
LEMID-Mti01	<i>Macrocybe titans</i> (H.E. Bigelow & Kimbr.) Pegler, Lodge & Nakasone (1998)	Isolado proveniente da coleção da EMBRAPA, Colombo (EF67)	Não frutificado
LEMID-Oca01	<i>Oudemansiella canarii</i> (Jungh, 1838) Höhn, 1909	Substrato colonizado comercializado pela empresa Cogubras, Curitiba - PR	Frutificado
LEMID-Oca02	<i>Oudemansiella canarii</i>	Isolado proveniente da coleção da EMBRAPA, Colombo (EF71)	Frutificado
LEMID-Pdj01	<i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. ex Fr.) Boedijn, 1959	Inóculo comercializado pela empresa Funghi & Flora Valinhos - SP (grãos de trigo colonizados)	Frutificado
LEMID-Pdj02	<i>Pleurotus djamor</i>	Isolado proveniente da coleção da EMBRAPA, Colombo (EF86)	Frutificado

TABELA 1 - ISOLADOS DE COGUMELOS NATIVOS E EXÓTICOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO TESTADOS PARA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*.

Isolado	Espécie	Origem	Coleta do substrato (conclusão)
LEMID-Per01	<i>Pleurotus eryngii</i> (DeCandolle., 1815) Quél., 1872	Basidiocarpos comercializado pela empresa Urakami como Eryngii, Moji das Cruzes - SP	Frutificado
LEMID-Per02	<i>Pleurotus eryngii</i>	Basidiocarpos comercializado pela empresa Urakami como Shimeji Premium, Moji das Cruzes - SP	Frutificado
LEMID-Pos01	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm., 1871	Basidiocarpos comercializado pela empresa Urakami como Shimeji, Moji das Cruzes - SP	Frutificado
LEMID-Pos02	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Basidiocarpos comercializado pela empresa Urakami como Shimeji, Moji das Cruzes - SP	Frutificado
LEMID-Ppu01	<i>Pleurotus pulmonarius</i> (Fr.) Quél., 1872	Inóculo comercializado pela empresa Funghi & Flora Valinhos - SP (grãos de trigo colonizados)	Frutificado
LEMID-Ppu02	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Substrato colonizado comercializado pela empresa Cogubras, Curitiba - PR	Frutificado
LEMID-Ppu03	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Substrato colonizado comercializado pela empresa Cogubras, Curitiba - PR	Frutificado
LEMID-Ppu04	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Inóculo comercializado pela empresa Funghi & Flora Valinhos - SP (grãos de trigo colonizados)	Frutificado
LEMID-Psa01	<i>Pycnoporus sanguineus</i> (Linnaeus, 1763) Murrill, 1904	Coleta em tronco no Centro Politécnico da UFPR, Curitiba - PR (25°27'14.1"S 49°14'05.5"W)	Não frutificado
LEMID-Psa02	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	Coleta em tronco no Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba - PR (25°24'39.8"S 49°14'54.8"W)	Não frutificado
LEMID-Pud01	<i>Polyporus udus</i> Jungh., 1840	Isolado proveniente da coleção da EMBRAPA, Colombo (EF92)	Não frutificado

Produção do filtrado do meio líquido de cultivo de cogumelos

Os isolados de cogumelos foram cultivados em meio BDA por 12 dias, quando então foram retirados 3 discos de 11 mm de diâmetro e transferidos para Erlenmeyers de 250 mL de capacidade, contendo 125 mL de caldo de milho (40 g L⁻¹ de farinha de milho e 20 g L⁻¹ de dextrose) pré-cozido a 60 °C por 2 horas. Os frascos foram fechados com algodão e folhas de alumínio, e mantidos no escuro sob agitação constante de 175 rpm a 25 °C por 30 dias. Após o término do período de incubação, os meios líquidos foram filtrados por 2 camadas de papel filtro (filtro 80 g com poros de 4 a 12 µm) tensionadas por bomba de vácuo de 550 mm de Hg. Os filtrados obtidos foram congelados a -20 °C até a utilização.

Produção do Extrato Aquoso do Substrato de Cogumelos

Os cogumelos foram cultivados em substrato composto por serragem grosseira (marcenaria do setor de Ciências Agrárias da UFPR), farelo de trigo (Anaconda), calcário agrícola (Solo Branco) e gesso (AM Gesso), na proporção 88:10:1:1 (m m⁻¹). A serragem grosseira foi imersa em água por 24 horas, sendo então retirada da imersão e mantida em repouso sobre uma peneira por 1 hora. Após este período, o teor de água foi definido através da compressão de uma porção de substrato na mão, e quando pequenas gotículas de água se formaram entre os dedos sem ocorrer o escorrimento foram adicionados os demais componentes. O substrato foi misturado manualmente e embalado em sacos de polipropileno com dimensões de 18x30 cm. As embalagens foram fechadas com uma rolha de espuma e amarrada com elásticos de látex. Após o fechamento, os sacos foram autoclavados a 121 °C por 1 hora, e posteriormente permaneceram em repouso por três dias. Para a desinfestação superficial dos sacos de substrato, em câmara de fluxo laminar os sacos de substrato foram mantidos por 30 min sob radiação UV. Posteriormente foi adicionado ¼ do conteúdo de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro contendo 40 g L⁻¹ de farinha de milho, 20 g L⁻¹ de dextrose e 15 g L⁻¹ de ágar colonizado pelo micélio de cada isolado de cogumelo.

Os sacos de substrato infestado foram mantidos no escuro até a colonização total do substrato. Aos 40 dias quando o substrato estava tomado pelo micélio, os sacos foram abertos e mantidos a temperatura ambiente e com umidade relativa superior a 90%. A coleta do substrato ocorreu após a primeira colheita de

basidiocarpos. No caso dos isolados que não frutificou, o substrato permaneceu incubado até 120 dias, quando então foi realizada a coleta. O extrato aquoso foi produzido pela imersão de 100 g de substrato de cogumelos em 200 mL de água destilada durante 24 horas e mantidos no escuro a 25 °C. A suspensão foi filtrada em um conjunto de filtração à vácuo com duas camadas de papel filtro (filtro Synth 80 g com poros de 4 a 12 µm). Os filtrados obtidos foram congelados a -20 °C até a utilização.

Eclosão de juvenis de *M. javanica* submetidos aos filtrados de meio líquido e extratos do substrato de cultivo de cogumelos

A suspensão de ovos utilizada nos testes de eclosão de *M. javanica* foi obtida pela extração de nematoides de raízes com utilização de caulim (COOLEN; D'HERDE, 1972). As raízes infestadas com *M. javanica* foram cortadas em pedaços de aproximadamente 2 cm de comprimento, sendo adicionadas cerca de 50 g de raízes no liquidificador com um volume de solução de NaOCl (0,5%) suficiente para cobri-las. As raízes foram trituradas por 20 segundos, e a suspensão foi vertida sobre duas peneiras de 200 e 500 Mesh, respectivamente. A suspensão retida na peneira de 500 Mesh foi vertida em tubos falcon contendo 1 cm³ de caulim e submetida à centrifugação a 1750 rpm por 4 minutos. Após a formação do pelete, o sobrenadante foi descartado e o pelete foi resuspenso em sacarose (456 g L⁻¹). A suspensão foi submetida à flotação a 1750 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi depositado sobre peneiras de 200 e 500 Mesh, e submetidas à água corrente em abundância. A suspensão coletada na peneira de 500 Mesh foi precipitada por 2 horas, concentrada e resuspenso em solução de água destilada autoclavada e sulfato de estreptomicina (0,5 g L⁻¹) por 24 horas, e posterior contagem.

Para a realização dos testes, foram utilizadas ampolas de vidro com capacidade de 10 mL. Em cada ampola foi adicionado 100 µL da suspensão de ovos estimada em cerca de 300 ovos. Adicionou-se 400 µL de solução de sulfato de estreptomicina (0,5 g L⁻¹) e 500 µL Tween (0,5 mL L⁻¹). Para os tratamentos foi adicionado 1 mL dos filtrados do meio de cultura líquido, ou os extratos do substrato de cultivo obtidos como descrito anteriormente. Para cada tratamento havia três frascos com as testemunhas, no qual o extrato aquoso dos cogumelos foi substituído por água destilada.

As ampolas foram incubadas a 25 °C no escuro até o décimo sexto dia, quando foi realizada a contagem com auxílio de câmara de Peters em microscópio de luz em aumento de 40 vezes. Foram contabilizados os ovos não eclodidos e os J2 existentes no volume total da ampola. A taxa de eclosão foi calculada segundo a fórmula:

$$E (\%) = \frac{J2}{O + J2} \times 100$$

Onde, “E(%)” representa o percentual de J2 eclodidos, “O” corresponde ao número de ovos não eclodidos, e “J2” aos Juvenis eclodidos. As médias de ovos não eclodidos e J2 eclodidos correspondem à média de três repetições. Os dados foram submetidos ao teste de Qui-quadrado, onde foi utilizado 1 grau de liberdade para 1% de probabilidade de erro.

Avaliação da motilidade e mortalidade de juvenis de *M. javanica* submetidos aos filtrados de meio líquido e extratos do substrato de cultivo de cogumelos

Para o teste de motilidade e mortalidade de juvenis de *M. javanica* foram utilizados J2 recém eclodidos, para isso a suspensão de ovos obtida como descrito anteriormente foi submetida à câmara de eclosão aerada. Os J2 obtidos nas primeiras 24 horas foram descartados, sendo coletados os J2 obtidos entre 24 e 72 horas após a incubação. Os testes foram conduzidos em ampolas de vidro com 10 mL de capacidade. Cada ampola recebeu 100 µL da suspensão com cerca de 75 J2, 400 µL de solução de sulfato de estreptomicina (0,5 g L⁻¹) e 500 µL de Tween (0,5 ml L⁻¹). Os tratamentos correspondiam a adição de 1 mL dos filtrados do meio líquido de cultivo de cogumelos ou extrato aquoso do substrato cogumelos.

Para cada tratamento havia três frascos com as testemunhas, no qual os filtrados ou os extratos aquosos do substrato de cultivo dos cogumelos foram substituídos por água destilada. Entretanto, as proporções para as soluções de sulfato de estreptomicina, Tween e a suspensão de ovos continuou a mesma. As ampolas foram incubadas a 25 °C no escuro por 48 horas. As contagens foram realizadas com auxílio de câmara de Peters em microscópio de luz em aumento de 40 vezes. Primeiramente foram contabilizados os J2 que apresentavam o corpo retilíneo, e separadamente foram contabilizados os J2 com o corpo contorcido existentes no volume total da ampola.

Os dados obtidos pela primeira contagem correspondem à motilidade, cuja taxa foi calculada segundo a fórmula:

$$Mot(\%) = \frac{Ret}{Con + Ret} \times 100$$

Onde, “Mot(%)” representa o percentual de J2 imobilizados, “Con” corresponde ao número de J2 contorcidos, e “Ret” aos J2 com o corpo retilíneo. Na seqüência foram adicionados 200 µL de solução de NaOH (1 Normal) (CHEN; DICKSON, 2000; HARADA; YOSHIGA, 2015) diretamente na câmara de Peters, e homogeneizada com a pipeta. Após 1 minuto, foi iniciada a contagem de J2 contorcidos e J2 retilíneos existentes em todo o volume da ampola. Os dados obtidos pela segunda contagem correspondem à mortalidade, cuja taxa foi calculada segundo a fórmula:

$$Mor(\%) = \frac{Ret}{Con + Ret} \times 100$$

Onde, “Mor(%)” representa o percentual de J2 mortos, “Con” corresponde ao número de J2 contorcidos, e “Ret” aos J2 com o corpo retilíneo. As médias de motilidade e mortalidade dos J2 correspondem à média de três repetições. Os dados foram submetidos ao teste de Qui-quadrado, onde foi utilizado 1 grau de liberdade para 1% de probabilidade de erro.

Interação *in vitro* entre *M. javanica* e os isolados de cogumelos

Em placas de Petri de 9 cm de diâmetro foi vertido meio AA (15 g L⁻¹) ou BDA (2 g L⁻¹ de batata, 10 g L⁻¹ de dextrose e 15 g L⁻¹ de ágar). Um disco de 5 mm de diâmetro removido de culturas de 10 a 15 dias de idade foi depositado no centro de cada placa. A incubação foi realizada a 25 °C no escuro por 10 dias. Em condições assépticas e com auxílio de uma espátula foi realizada a raspagem do micélio aéreo de metade da superfície das placas contendo AA e de toda a superfície das placas com BDA. Após a remoção das hifas aéreas, as placas foram incubadas a 25 °C por um período de 20 a 28 horas. Posteriormente foi realizada a deposição de 50 µL de suspensão contendo cerca de 30 J2 de *M. javanica*. Nas placas contendo AA, a suspensão de nematoides foi distribuída em gotas na borda da colônia. Nas placas contendo BDA, as gotas foram distribuídas cerca de 1 cm de distância do centro da placa. As placas com os nematoides foram incubadas por 1 hora em temperatura de 25 °C. Após a incubação foi realizada a contagem dos nematoides móveis e imóveis

em microscópio estereoscópio com ampliação de 100 vezes. Os nematoides foram considerados imóveis na ausência de movimentos em 5 segundos de observação. As testemunhas foram compostas por J2 de *M. javanica* depositados sobre placas de Petri contendo o respectivo meio de cultura do tratamento. As médias de cada tratamento foram compostas pelas contagens de 3 placas de Petri e comparadas com as médias das testemunhas por meio do teste de qui-quadrado.

4.3 RESULTADOS

Eclosão de juvenis de *M. javanica* submetidos aos filtrados de meio líquido e extratos do substrato de cultivo de cogumelos

Os resultados obtidos no teste de eclosão de juvenis de *M. javanica* submetidos aos filtrados de meio líquido de cultivo de cogumelos foram expressos na TABELA 2. Dentre os filtrados testados, apenas o filtrado de *P. udus* (LEMID-Pud01) não causou a redução na eclosão de J2 de *M. javanica* em relação à testemunha. Os filtrados obtidos do meio líquido de cultivo de *A. blazei* (LEMID-Abi01), *C. comatus* (LEMID-Cco01), *L. edodes* (LEMID-Led02), *Lentinus* sp. (LEMID-Lsp01), *O. canarii* (LEMID-Oca02), *P. eryngii* (LEMID-Per01), *P. ostreatus* (LEMID-Pos02), *P. pulmonarius* (LEMID-Ppu01, LEMID-Ppu03 e LEMID-Ppu04) e *P. sanguineus* (LEMID-Psa01) resultaram em uma redução superior a 50% no número de juvenis eclodidos em comparação às testemunhas.

Os resultados obtidos no teste de eclosão de juvenis de *M. javanica* submetidos aos extratos aquosos do substrato de cultivo de cogumelos em serragem foram expressos na TABELA 3. Os extratos obtidos dos isolados de *C. comatus* (LEMID-Cco01), *G. orbiforme* (LEMID-Gor01), *O. canarii* (LEMID-Oca02), *P. pulmonarius* (LEMID-Ppu01), *P. sanguineus* (LEMID-Psa02) e *P. udus* (LEMID-Pud01) não reduziram o número de juvenis eclodidos em relação às testemunhas.

TABELA 2 - ECLOSÃO DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* SUBMETIDOS AOS FILTRADOS DE MEIO LÍQUIDO CULTIVO DE COGUMELOS.

Filtrado	Tratamento			Testemunha			X ²	P
	Ovos	J2	Ec (%)	Ovos	J2	Ec (%)		
LEMID-Abi01	236,3	12,0	4,8	110,0	148,7	57,5	162,2	P<0,01
LEMID-Cco01	170,7	3,3	1,9	121,3	145,0	54,4	130,0	P<0,01
LEMID-Gor01	205,3	17,3	7,8	176,7	215,7	55,0	134,4	P<0,01
LEMID-Lbo01	259,0	13,7	5,0	274,7	139,3	33,7	77,9	P<0,01
LEMID-Led01	155,0	13,3	7,9	192,7	98,3	33,8	38,8	P<0,01
LEMID-Led02	178,3	5,3	2,9	179,3	209,7	53,9	138,4	P<0,01
LEMID-Lsp01	227,3	5,7	2,4	142,3	166,7	53,9	162,5	P<0,01
LEMID-Lsp02	214,7	17,7	7,6	156,0	166,7	51,7	118,2	P<0,01
LEMID-Mti01	241,3	14,3	5,6	223,0	147,0	39,7	92,0	P<0,01
LEMID-Oca01	210,0	15,3	6,8	160,3	201,0	55,6	142,1	P<0,01
LEMID-Oca02	340,7	7,0	2,0	176,3	222,0	55,7	251,8	P<0,01
LEMID-Pdj01	213,7	11,7	5,2	176,7	215,7	55,0	152,6	P<0,01
LEMID-Pdj02	189,0	52,7	21,8	244,7	163,3	40,0	22,8	P<0,01
LEMID-Per01	200,0	10,3	4,9	93,7	147,0	61,1	155,9	P<0,01
LEMID-Per02	194,3	13,0	6,3	189,3	105,7	35,8	58,9	P<0,01
LEMID-Pos01	292,7	13,3	4,4	180,7	94,7	34,4	86,4	P<0,01
LEMID-Pos02	268,3	4,3	1,6	115,3	144,7	55,6	193,0	P<0,01
LEMID-Ppu01	236,0	4,7	1,9	185,0	204,0	52,4	171,2	P<0,01
LEMID-Ppu02	216,3	12,7	5,5	180,3	220,0	55,0	152,7	P<0,01
LEMID-Ppu03	239,0	11,7	4,7	93,7	147,0	61,1	178,8	P<0,01
LEMID-Ppu04	289,0	12,0	4,0	115,0	141,3	55,1	181,6	P<0,01
LEMID-Psa01	233,3	5,0	2,1	180,7	213,7	54,2	178,2	P<0,01
LEMID-Psa02	168,0	3,7	2,1	177,7	97,0	35,3	66,6	P<0,01
LEMID-Pud01	174,3	136,0	43,8	133,3	150,7	53,1	5,1	P>0,01

Ovos= número de ovos com J2 não eclodidos; J2= número de J2 eclodidos; Eclosão (%)= taxa de eclosão calculada pela fórmula proposta na metodologia; χ^2 = valor de qui-quadrado comparando as frequências da testemunha versus os tratamentos; P = valor de probabilidade para qui-quadrado tabelado para 1 grau de liberdade.

TABELA 3 - ECLOSÃO DE J2 DE *Meloidogyne javanica* SUBMETIDOS AOS EXTRATOS AQUOSOS DO SUBSTRATO DE CULTIVO DE COGUMELOS EM SERRAGEM.

Extrato	Tratamento			Testemunha			X ²	P
	Ovos	J2	Ec (%)	Ovos	J2	Ec (%)		
LEMID-Abi01	132,7	108,0	44,9	70,3	198,3	73,8	44,4	P<0,01
LEMID-Cco01	86,0	108,0	55,7	141,0	150,7	51,7	0,8	P>0,01
LEMID-Gor01	50,7	65,0	56,2	157,7	155,0	49,6	1,5	P>0,01
LEMID-Lbo01	126,3	21,0	14,3	194,0	104,7	35,0	21,1	P<0,01
LEMID-Led01	193,3	17,0	8,1	23,0	162,7	87,6	251,7	P<0,01
LEMID-Led02	199,0	11,7	5,5	25,3	160,7	86,4	262,8	P<0,01
LEMID-Lsp01	94,0	68,0	42,0	35,0	178,0	83,6	70,5	P<0,01
LEMID-Lsp02	236,0	17,3	6,8	121,7	130,7	51,8	123,3	P<0,01
LEMID-Mti01	138,0	24,0	14,8	45,7	99,3	68,5	91,8	P<0,01
LEMID-Oca01	162,7	101,7	38,5	117,0	157,7	57,4	19,4	P<0,01
LEMID-Oca02	52,3	126,0	70,7	110,0	161,0	59,4	5,9	P>0,01
LEMID-Pdj01	201,0	134,3	40,1	62,3	198,0	76,1	77,0	P<0,01
LEMID-Pdj02	258,3	14,0	5,1	199,7	134,3	40,2	99,9	P<0,01
LEMID-Per01	246,3	7,3	2,9	96,0	109,7	53,3	152,2	P<0,01
LEMID-Per02	223,3	69,0	23,6	149,7	152,7	50,5	46,0	P<0,01
LEMID-Pos01	226,7	21,0	8,5	156,7	154,0	49,6	108,1	P<0,01
LEMID-Pos02	223,3	8,3	3,6	222,0	155,0	41,1	102,9	P<0,01
LEMID-Ppu01	388,7	225,0	36,7	196,3	125,3	39,0	0,5	P>0,01
LEMID-Ppu02	223,0	17,0	7,1	166,0	177,3	51,7	126,3	P<0,01
LEMID-Ppu03	222,3	17,7	7,4	188,3	101,7	35,1	57,7	P<0,01
LEMID-Ppu04	168,0	84,5	33,5	96,0	109,7	53,3	18,3	P<0,01
LEMID-Psa01	192,0	65,0	25,3	33,7	177,3	84,0	160,2	P<0,01
LEMID-Psa02	95,0	256,3	73,0	85,3	157,0	64,8	4,5	P>0,01
LEMID-Pud01	55,7	68,0	55,0	77,7	109,7	58,5	0,4	P>0,01

Ovos= número de ovos com J2 não eclodidos; J2= número de J2 eclodidos; Eclosão (%)= taxa de eclosão calculada pela fórmula proposta na metodologia; χ^2 = valor de qui-quadrado comparando as frequências da testemunha versus os tratamentos; P = valor de probabilidade para qui-quadrado tabelado para 1 grau de liberdade.

Avaliação da motilidade e mortalidade de juvenis de *M. javanica* submetidos aos filtrados de meio líquido e extratos do substrato de cultivo de cogumelos

As taxas de motilidade e mortalidade dos juvenis de *M. javanica* submetidos aos filtrados do meio líquido de cultivo cogumelos foram expressos na TABELA 4. Dentre os filtrados testados, o único incapaz de causar a imobilização dos nematoides sem causar a morte foi proveniente do isolado de *O. canarii* (LEMID-Oca01). Os demais filtrados foram capazes de causar taxas de imobilização de 15,6 a 98,2%. A mortalidade de juvenis de *M. javanica* foi observada na maioria dos tratamentos, entretanto, os filtrados obtidos de *P. djamor* (LEMID-Pdj02), *P. udus* (LEMID-Pud01) e *O. canarii* (LEMID-Oca01) não causaram a mortalidade dos juvenis.

As taxas de motilidade e mortalidade dos juvenis de *M. javanica* submetidos aos extratos aquosos do substrato de cultivo cogumelos em serragem foram expressas na TABELA 5. Os extratos obtidos do substrato de *O. canarii* (LEMID-Oca01), *P. djamor* (LEMID-Pdj02) e *P. sanguineus* (LEMID-Psa02) não foram capazes de causar a imobilização e a morte dos juvenis de *M. javanica*. A mortalidade dos juvenis de *M. javanica* também não foi observada nos extratos obtidos do substrato de *C. comatus* (LEMID-Cco01), *G. orbiforme* (LEMID-Gor01), *Lentinus* sp. (LEMID-Lsp01), *P. eryngii* (LEMID-Per02) e *O. canarii* (LEMID-Oca02).

Interação *in vitro* entre *M. javanica* e os isolados de cogumelos

As taxas de imobilização de juvenis de *M. javanica* submetidos ao contato com o micélio intacto e regenerado de cogumelos cultivados em meio ágar-água foram expressas na TABELA 6 e TABELA 7 respectivamente. Os nematoides depositados se dispersaram por toda a superfície das placas contendo meio ágar-água, mesmo com a colonização pelo micélio de cogumelos. Não foi observada a imobilização dos nematoides no período de 1 hora em culturas intactas e regeneradas.

Para os testes realizados sobre meio de cultura contendo 50% da concentração padrão de BDA, as taxas de imobilização de juvenis de *M. javanica* submetidos ao contato com o micélio regenerado de cogumelos foram expressas na TABELA 8. Foi observada a imobilização dos nematoides no período de 1 hora nas culturas regeneradas de *G. orbiforme* (LEMID-Gor01), *L. edodes* (LEMID-Led01 e LEMID-Led02), *M. titans* (LEMID-Mti01), *P. djamor* (LEMID-Pdj02), *P. eryngii* (LEMID-Per01) e *P. udus* (LEMID-Pud01).

Tentou-se ampliar o período de incubação para 24 horas, entretanto foi observada a intensa colonização do meio de cultura pelos cogumelos e por outros microrganismos provenientes da suspensão de nematoides. Além do excesso de micélio aéreo e de contaminantes, também foi observada a ocorrência da penetração dos juvenis no meio de cultura, inviabilizando a contagem.

TABELA 4 - MOTILIDADE E MORTALIDADE DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* EXPOSTOS AOS FILTRADOS DO MEIO LÍQUIDO DE COGUMELOS. MORTALIDADE AVALIADA PELA ADIÇÃO DE NaOH (CHEN; DICKSON, 2000; HARADA; YOSHIGA, 2015).

Filtrado	Tratamento					Testemunha					Motilidade		Mortalidade	
	Vivos	Imóveis	Mortos	Mt (%)	Mr (%)	Vivos	Imóveis	Mortos	Mt (%)	Mr (%)	X ²	P	X ²	P
LEMID-Abi01	42,0	40,3	23,7	60,4	22,3	90,0	11,3	10,0	19,2	9,0	38,7	P<0,01	7,4	P<0,01
LEMID-Cco01	7,7	6,0	49,7	87,9	78,4	84,0	1,0	5,3	7,0	5,9	101,2	P<0,01	85,2	P<0,01
LEMID-Gor01	16,3	27,0	20,7	74,5	32,3	88,7	7,0	9,0	15,3	8,6	59,2	P<0,01	15,4	P<0,01
LEMID-Lbo01	58,0	5,3	20,7	31,0	24,6	81,0	0,3	5,0	6,2	5,8	17,4	P<0,01	11,8	P<0,01
LEMID-Led01	42,7	20,0	22,7	50,0	26,6	75,3	0,0	2,0	2,6	2,6	45,8	P<0,01	18,1	P<0,01
LEMID-Led02	4,3	0,0	97,0	95,7	95,7	106,7	2,3	5,7	7,0	4,9	169,6	P<0,01	177,8	P<0,01
LEMID-Lsp01	5,3	1,3	56,3	91,5	89,4	77,0	0,0	2,0	2,5	2,5	114,0	P<0,01	109,3	P<0,01
LEMID-Lsp02	16,3	10,0	30,7	71,3	53,8	89,3	1,0	4,0	5,3	4,2	73,6	P<0,01	49,4	P<0,01
LEMID-Mti01	64,7	12,7	11,3	27,1	12,8	85,3	0,0	2,0	2,3	2,3	21,5	P<0,01	6,9	P<0,01
LEMID-Oca01	60,0	2,3	1,3	5,8	2,1	74,3	0,0	1,3	1,8	1,8	1,6	P>0,01	0,0	P>0,01
LEMID-Oca02	37,7	4,7	26,7	45,4	38,6	79,0	0,0	2,3	2,9	2,9	38,9	P<0,01	30,7	P<0,01
LEMID-Pdj01	6,7	1,7	60,7	90,3	87,9	82,7	0,7	4,7	6,1	5,3	112,0	P<0,01	108,7	P<0,01
LEMID-Pdj02	63,3	2,7	9,7	16,3	12,8	78,0	0,0	2,3	2,9	2,9	8,2	P<0,01	5,3	P>0,01
LEMID-Per01	73,0	12,3	33,7	38,7	28,3	88,7	7,7	5,7	13,1	5,6	18,3	P<0,01	19,4	P<0,01
LEMID-Per02	58,0	7,3	20,0	32,0	23,4	107,7	5,3	3,7	7,7	3,1	19,8	P<0,01	19,6	P<0,01
LEMID-Pos01	41,3	17,0	60,3	65,2	50,8	110,0	4,7	2,0	5,7	1,7	90,6	P<0,01	72,9	P<0,01
LEMID-Pos02	18,7	10,3	98,3	85,3	77,2	115,0	3,0	2,7	4,7	2,2	162,2	P<0,01	144,4	P<0,01
LEMID-Ppu01	70,0	1,7	15,0	19,2	17,3	79,3	0,3	3,0	4,0	3,6	9,4	P<0,01	8,3	P<0,01
LEMID-Ppu02	11,7	0,0	89,7	88,5	88,5	81,3	12,3	9,7	21,3	9,4	93,2	P<0,01	128,3	P<0,01
LEMID-Ppu03	4,3	0,0	60,3	93,3	93,3	89,3	1,0	4,0	5,3	4,2	122,7	P<0,01	126,3	P<0,01
LEMID-Ppu04	13,3	15,0	71,3	86,6	71,6	91,3	5,7	3,7	9,3	3,6	120,1	P<0,01	98,7	P<0,01
LEMID-Psa01	4,7	0,0	62,3	93,0	93,0	75,0	0,0	0,7	0,9	0,9	122,4	P<0,01	122,4	P<0,01
LEMID-Psa02	1,0	1,3	53,0	98,2	95,8	56,0	0,0	2,0	3,4	3,4	101,7	P<0,01	96,7	P<0,01
LEMID-Pud01	95,3	8,7	9,0	15,6	8,0	112,7	0,7	5,0	4,8	4,2	7,5	P<0,01	1,4	P>0,01

Vivos = juvenis ativos na primeira contagem; Imóveis = total de juvenis inativos na primeira contagem menos o número de juvenis ativos após a adição de NaOH; Mortos = juvenis inativos após a adição de NaOH; Mt (%) = taxa de juvenis imóveis; Mr (%) = taxa de juvenis mortos; χ^2 = valor de qui-quadrado comparando as frequências da testemunha versus os tratamentos; P = valor de probabilidade para qui-quadrado tabelado para 1 grau de liberdade.

TABELA 5 - MOTILIDADE E MORTALIDADE DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* EXPOSTOS AOS EXTRATOS AQUOSOS DO SUBSTRATO DE CULTIVO DE COGUMELOS EM SERRAGEM. MORTALIDADE AVALIADA PELA ADIÇÃO DE NaOH (CHEN; DICKSON, 2000; HARADA; YOSHIGA, 2015).

Extrato	Tratamento					Testemunha					Motilidade		Mortalidade	
	Vivos	Imóveis	Mortos	Mt (%)	Mr (%)	Vivos	Imóveis	Mortos	Mt (%)	Mr (%)	X ²	P	X ²	P
LEMID-Abi01	35,7	13,0	64,0	68,3	56,8	78,0	5,3	22,7	26,4	21,4	38,5	P<0,01	28,6	P<0,01
LEMID-Cco01	61,3	14,3	31,7	42,9	29,5	84,7	5,7	20,3	23,5	18,4	9,2	P<0,01	3,7	P>0,01
LEMID-Gor01	68,7	15,0	13,3	29,2	13,7	106,3	2,3	6,7	7,8	5,8	16,7	P<0,01	3,9	P>0,01
LEMID-Lbo01	17,3	9,0	66,0	81,2	71,5	89,7	8,0	5,0	12,7	4,9	92,3	P<0,01	93,2	P<0,01
LEMID-Led01	15,3	0,0	48,7	76,0	76,0	49,3	0,0	0,7	1,3	1,3	63,8	P<0,01	63,8	P<0,01
LEMID-Led02	14,7	0,0	63,3	81,2	81,2	94,0	4,7	6,3	10,5	6,0	92,8	P<0,01	107,2	P<0,01
LEMID-Lsp01	78,0	21,0	15,7	32,0	13,7	97,3	5,3	7,3	11,5	6,7	13,7	P<0,01	3,0	P>0,01
LEMID-Lsp02	35,3	15,3	57,0	67,2	52,9	81,7	5,0	20,0	23,4	18,8	41,4	P<0,01	27,2	P<0,01
LEMID-Mti01	9,3	0,0	74,0	88,8	88,8	93,0	3,3	4,3	7,6	4,3	121,7	P<0,01	133,1	P<0,01
LEMID-Oca01	74,7	18,3	20,3	34,1	17,9	75,7	5,0	20,0	24,8	19,9	2,2	P>0,01	0,1	P>0,01
LEMID-Oca02	68,0	27,3	9,0	34,8	8,6	109,3	5,3	7,7	10,6	6,3	19,4	P<0,01	0,5	P>0,01
LEMID-Pdj01	15,7	0,0	55,7	78,0	78,0	111,3	0,7	5,7	5,4	4,8	106,4	P<0,01	108,6	P<0,01
LEMID-Pdj02	48,3	10,3	20,3	38,8	25,7	81,0	3,7	20,7	23,1	19,6	5,3	P>0,01	1,0	P>0,01
LEMID-Per01	8,3	0,0	75,3	90,0	90,0	88,7	2,3	4,3	7,0	4,5	123,8	P<0,01	131,9	P<0,01
LEMID-Per02	66,0	34,3	6,7	38,3	6,2	107,3	0,7	6,0	5,8	5,3	34,4	P<0,01	0,1	P>0,01
LEMID-Pos01	37,0	7,0	9,3	30,6	17,5	56,3	0,0	1,7	2,9	2,9	15,8	P<0,01	6,7	P<0,01
LEMID-Pos02	5,7	5,0	59,0	91,9	84,7	104,7	2,0	7,7	8,5	6,7	125,5	P<0,01	113,9	P<0,01
LEMID-Ppu01	29,3	21,3	29,3	63,3	36,7	82,3	3,7	4,0	8,5	4,4	56,5	P<0,01	27,9	P<0,01
LEMID-Ppu02	12,0	5,3	39,7	78,9	69,6	53,7	0,0	1,7	3,0	3,0	66,7	P<0,01	53,5	P<0,01
LEMID-Ppu03	33,7	0,0	51,3	60,4	60,4	94,0	4,7	6,3	10,5	6,0	53,1	P<0,01	65,7	P<0,01
LEMID-Ppu04	50,7	7,3	43,3	50,0	42,8	85,7	5,0	18,3	21,4	16,8	18,8	P<0,01	17,1	P<0,01
LEMID-Psa01	2,3	0,7	69,0	96,8	95,8	85,7	7,3	19,7	24,0	17,5	93,3	P<0,01	108,1	P<0,01
LEMID-Psa02	102,0	8,7	7,7	13,8	6,5	101,3	5,0	6,3	10,1	5,6	0,8	P>0,01	0,1	P>0,01
LEMID-Pud01	36,0	17,3	58,0	67,7	52,1	88,3	6,3	4,7	11,1	4,7	69,5	P<0,01	56,4	P<0,01

Vivos = juvenis ativos na primeira contagem; Imóveis = total de juvenis inativos na primeira contagem menos o número de juvenis ativos após a adição de NaOH; Mortos = juvenis inativos após a adição de NaOH; Mt (%) = taxa de juvenis imóveis; Mr (%) = taxa de juvenis mortos; χ^2 = valor de qui-quadrado comparando as frequências da testemunha versus os tratamentos; P = valor de probabilidade para qui-quadrado tabelado para 1 grau de liberdade.

TABELA 6 - IMOBILIZAÇÃO DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* PELO MICÉLIO INTACTO DE COGUMELOS CULTIVADO EM MEIO ÁGAR-ÁGUA.

Isolado	Tratamentos			Testemunha			X ²	P
	Móveis	Imóveis	Imb. (%)	Móveis	Imóveis	Imb. (%)		
LEMID-Abi01	28,7	4,0	12,2	31,0	2,7	7,9	0,3	P>0,01
LEMID-Cco01	33,3	2,7	7,4	29,3	1,3	4,3	0,3	P>0,01
LEMID-Gor01	26,0	3,7	12,4	29,3	0,0	0,0	3,9	P>0,01
LEMID-Lbo01	35,3	2,0	5,4	34,3	2,3	6,4	0,0	P>0,01
LEMID-Led01	24,3	1,3	5,2	32,0	2,7	7,7	0,1	P>0,01
LEMID-Led02	34,0	2,7	7,3	31,0	2,7	7,9	0,0	P>0,01
LEMID-Lsp01	30,0	2,3	7,2	32,7	1,3	3,9	0,3	P>0,01
LEMID-Lsp02	26,7	2,0	7,0	26,0	0,7	2,5	0,6	P>0,01
LEMID-Mti01	25,7	1,3	4,9	29,7	0,0	0,0	1,5	P>0,01
LEMID-Oca01	32,3	2,0	5,8	37,7	2,0	5,0	0,0	P>0,01
LEMID-Oca02	28,7	1,7	5,5	34,3	1,0	2,8	0,3	P>0,01
LEMID-Pdj01	36,0	2,7	6,9	33,0	1,7	4,8	0,1	P>0,01
LEMID-Pdj02	33,7	4,3	11,4	27,3	2,3	7,9	0,2	P>0,01
LEMID-Per01	24,3	1,0	3,9	28,7	0,0	0,0	1,2	P>0,01
LEMID-Per02	27,3	4,0	12,8	34,0	2,3	6,4	0,8	P>0,01
LEMID-Pos01	27,0	1,0	3,6	31,7	1,7	5,0	0,1	P>0,01
LEMID-Pos02	26,3	0,3	1,3	30,0	0,3	1,1	0,0	P>0,01
LEMID-Ppu01	24,0	3,0	11,1	30,3	1,3	4,2	1,0	P>0,01
LEMID-Ppu02	33,7	4,0	10,6	33,0	2,3	6,6	0,4	P>0,01
LEMID-Ppu03	29,0	2,0	6,5	32,0	0,7	2,0	0,8	P>0,01
LEMID-Ppu04	32,7	1,7	4,9	36,7	0,7	1,8	0,5	P>0,01
LEMID-Psa01	21,3	1,7	7,2	27,3	0,0	0,0	2,0	P>0,01
LEMID-Psa02	25,0	1,3	5,1	32,0	0,7	2,0	0,4	P>0,01
LEMID-Pud01	37,3	2,3	5,9	30,0	2,0	6,3	0,0	P>0,01

Móveis = número juvenis que apresentam movimentos durante 5 segundos de observação; Imóveis = número de juvenis que não apresentam movimentos dentro de 5 segundos de observação; Imb. (%) = Percentual de juvenis imóveis; χ^2 = valor de qui-quadrado comparando as frequências da testemunha versus os tratamentos; *P* = valor de probabilidade do qui-quadrado tabelado para 1 grau de liberdade.

TABELA 7 - IMOBILIZAÇÃO DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* PELO MICÉLIO REGENERADO DE COGUMELOS CULTIVADO EM MEIO ÁGAR-ÁGUA.

Isolado	Tratamento			Testemunha			X ²	P
	Móveis	Imóveis	Imb. (%)	Móveis	Imóveis	Imb. (%)		
LEMID-Abi01	32,7	3,3	9,3	27,7	1,7	5,7	0,3	P>0,01
LEMID-Cco01	24,3	1,3	5,2	21,0	0,0	0,0	1,1	P>0,01
LEMID-Gor01	22,3	4,3	16,3	28,7	0,0	0,0	5,1	P>0,01
LEMID-Lbo01	32,3	3,3	9,3	34,0	3,3	8,9	0,0	P>0,01
LEMID-Led01	28,3	1,7	5,6	33,0	2,3	6,6	0,0	P>0,01
LEMID-Led02	29,3	1,7	5,4	33,7	3,0	8,2	0,2	P>0,01
LEMID-Lsp01	36,3	1,3	3,5	34,7	3,3	8,8	0,9	P>0,01
LEMID-Lsp02	31,3	2,7	7,8	28,3	1,0	3,4	0,6	P>0,01
LEMID-Mti01	31,0	0,0	0,0	28,7	0,7	2,3	0,7	P>0,01
LEMID-Oca01	37,0	2,7	6,7	35,7	1,3	3,6	0,4	P>0,01
LEMID-Oca02	33,0	2,3	6,6	37,0	0,3	0,9	1,7	P>0,01
LEMID-Pdj01	35,3	3,3	8,6	31,7	1,0	3,1	1,0	P>0,01
LEMID-Pdj02	26,0	6,0	18,8	30,3	2,3	7,1	1,9	P>0,01
LEMID-Per01	23,0	0,3	1,4	27,3	0,0	0,0	0,4	P>0,01
LEMID-Per02	36,7	3,3	8,3	32,7	1,3	3,9	0,6	P>0,01
LEMID-Pos01	23,3	2,0	7,9	25,0	1,0	3,8	0,4	P>0,01
LEMID-Pos02	26,3	0,0	0,0	27,3	0,3	1,2	0,3	P>0,01
LEMID-Ppu01	27,3	2,3	7,9	32,7	2,0	5,8	0,1	P>0,01
LEMID-Ppu02	35,7	2,0	5,3	25,7	2,0	7,2	0,1	P>0,01
LEMID-Ppu03	37,7	2,7	6,6	30,3	0,7	2,2	0,8	P>0,01
LEMID-Ppu04	31,7	1,7	5,0	32,7	0,3	1,0	0,9	P>0,01
LEMID-Psa01	23,7	0,7	2,7	28,3	0,0	0,0	0,8	P>0,01
LEMID-Psa02	28,0	2,0	6,7	26,0	1,0	3,7	0,3	P>0,01
LEMID-Pud01	36,3	3,0	7,6	28,7	1,0	3,4	0,6	P>0,01

Móveis = número juvenis que apresentam movimentos durante 5 segundos de observação; Imóveis = número de juvenis que não apresentam movimentos dentro de 5 segundos de observação; Imb. (%) = Percentual de juvenis imóveis; χ^2 = valor de qui-quadrado comparando as frequências da testemunha versus os tratamentos; *P* = valor de probabilidade do qui-quadrado tabelado para 1 grau de liberdade.

TABELA 8 - IMOBILIZAÇÃO DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* PELO MICÉLIO REGENERADO DE COGUMELOS CULTIVADO EM MEIO CONTENDO 50% DA CONCENTRAÇÃO PADRÃO DE BATATA, DEXTROSE E ÁGAR (BDA).

Isolado	Tratamento			Testemunha			χ^2	P
	Móveis	Imóveis	Imb. (%)	Móveis	Imóveis	Imb. (%)		
LEMID-Abi01	29,7	0,7	2,2	32,0	1,3	4,0	0,2	P>0,01
LEMID-Cco01	28,0	2,7	8,7	33,3	0,3	1,0	2,1	P>0,01
LEMID-Gor01	0,0	27,7	100,0	29,3	0,0	0,0	57,0	P<0,01
LEMID-Lbo01	27,3	0,3	1,2	31,7	0,3	1,0	0,0	P>0,01
LEMID-Led01	15,7	8,0	33,8	30,7	0,0	0,0	12,2	P<0,01
LEMID-Led02	26,0	2,3	8,2	32,7	0,0	0,0	2,8	P>0,01
LEMID-Lsp01	14,7	16,3	52,7	37,0	0,3	0,9	24,6	P<0,01
LEMID-Lsp02	1,3	32,0	96,0	32,0	0,7	2,0	58,3	P<0,01
LEMID-Mti01	26,0	0,0	0,0	31,3	0,7	2,1	0,5	P>0,01
LEMID-Oca01	29,0	1,7	5,4	36,7	0,3	0,9	1,2	P>0,01
LEMID-Oca02	26,0	1,0	3,7	38,0	1,3	3,4	0,0	P>0,01
LEMID-Pdj01	24,3	1,7	6,4	35,0	0,3	0,9	1,4	P>0,01
LEMID-Pdj02	1,0	27,0	96,4	29,3	0,7	2,2	51,5	P<0,01
LEMID-Per01	25,7	1,3	4,9	34,0	0,3	1,0	0,9	P>0,01
LEMID-Per02	21,7	1,7	7,1	36,7	0,0	0,0	2,7	P>0,01
LEMID-Pos01	21,7	3,7	14,5	29,7	1,0	3,3	2,3	P>0,01
LEMID-Pos02	25,3	2,7	9,5	32,7	0,7	2,0	1,7	P>0,01
LEMID-Ppu01	25,0	2,0	7,4	35,0	0,3	0,9	1,8	P>0,01
LEMID-Ppu02	22,7	3,3	12,8	35,3	0,7	1,9	3,0	P>0,01
LEMID-Ppu03	29,0	0,3	1,1	32,7	0,0	0,0	0,4	P>0,01
LEMID-Ppu04	23,0	0,0	0,0	33,0	0,7	2,0	0,5	P>0,01
LEMID-Psa01	24,3	0,0	0,0	30,7	0,7	2,1	0,5	P>0,01
LEMID-Psa02	0,3	26,0	98,7	29,7	1,0	3,3	51,8	P<0,01
LEMID-Pud01	0,0	31,3	100,0	34,0	0,0	0,0	65,3	P<0,01

Móveis = número juvenis que apresentam movimentos durante 5 segundos de observação; Imóveis = número de juvenis que não apresentam movimentos dentro de 5 segundos de observação; Imb. (%) = Percentual de juvenis imóveis; χ^2 = valor de qui-quadrado comparando as frequências da testemunha versus os tratamentos; P = valor de probabilidade do qui-quadrado tabelado para 1 grau de liberdade.

4.4 DISCUSSÃO

No presente estudo, foi verificado o potencial de controle de espécies de cogumelos sobre *M. javanica*. Os filtrados do meio líquido e os extratos aquosos do substrato de cultivo das espécies *A. blazei* (LEMID-Abi01), *L. boryana* (LEMID-Lbo01), *L. edodes* (LEMID-Led01 e LEMID-Led02), *Lentinus* sp. (LEMID-Lsp02), *M. titans* (LEMID-Mti01), *P. djamor* (LEMID-Pdj01), *P. eryngii* (LEMID-Per01), *P. ostreatus* (LEMID-Pos01 e LEMID-Pos02), *P. pulmonarius* (LEMID-Ppu02, LEMID-Ppu03 e LEMID-Ppu04) e *P. sanguineus* (LEMID-Psa01) apresentaram potencial

ovicida, nematostático e nematicida. Para os testes de interação entre o micélio dos cogumelos e os nematoides, somente os isolados *G. orbiforme* (LEMID-Gor01), *L. edodes* (LEMID-Led01 e LEMID-Led02), *M. titans* (LEMID-Mti01), *P. djamor* (LEMID-Pdj02), *P. eryngii* (LEMID-Per01) e *P. udus* (LEMID-Pud01) resultaram na imobilização de juvenis de *M. javanica*.

Pesquisas anteriores relataram o potencial de controle de nematoides por cogumelos. Stadler et al. (1994) constataram o potencial nematicida de basidiomicetos. Dos 220 isolados, somente 17 deles foram considerados como potenciais produtores de toxinas com atividade nematostática e nematicida. Dentre os isolados testados, foi destacado o potencial de *P. pulmonarius* e *Hericium coralloides* (Scop.) Pers., 1794. As toxinas purificadas obtidas de *P. pulmonarius* com potencial nematicida contra *Caenorhabditis elegans* Maupas, 1899 são o ácido S-coriólico e o ácido linoléico (STADLER et al., 1994).

Neste estudo foi demonstrado o potencial nematicida dos filtrados e extratos de três isolados de *P. pulmonarius* (LEMID-Ppu02, LEMID-Ppu03 e LEMID-Ppu04). Entretanto, os testes iniciais desenvolvidos por Stadler et al. (1994) para a seleção dos 17 isolados com potencial nematicida foram realizados por meio da interação do micélio fúngico com o nematoide *C. elegans*. O efeito nematicida era visível após 3 dias de incubação.

A manutenção de períodos de incubação superior à uma hora para a interação de *M. javanica* com o micélio dos cogumelos foi dificultada. O nematoide *C. elegans* é um bacteriófago facilmente cultivado em biorreatores automatizados (KIM et al., 2007). Culturas de *C. elegans* livres de contaminantes são facilmente obtidas. Em nossos testes com *M. javanica* houve a dificuldade em obter suspensões de nematoides livres de contaminantes. Assim, os períodos de incubação nos testes de interação do micélio dos cogumelos com os nematoides foram realizados em 1 hora.

Testes de interação entre o micélio fúngico de cogumelos e nematoides já haviam sido realizados por Thorn e Barron (1984). Isolados de *Hohenbuehelia* Schulzer., 1866 e *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm., 1871 cultivados em meio à base de ágar-água receberam 15 nematoides, sendo adicionados novos nematoides diariamente por até 7 dias. Para alguns isolados, a imobilização era observada em poucos minutos (THORN; BARRON, 1984). A imobilização de *M. javanica* por *P. ostreatus* cultivado em meio ágar-água não foi observada neste trabalho.

Nas condições dos testes realizados por Barron e Thorn (1987), eles relataram a produção de toxinas em estruturas especializadas emitidas pelo micélio de *P. ostreatus* em meio ágar-água. Nematoides de vida livre (Rhabditidae), quando em contato com essas estruturas presentes no micélio de *P. ostratus*, eram imobilizados em cerca de 30 segundos. A toxina responsável pela imobilização dos nematoides foi chamada de Ostreatina (BARRON; THORN, 1987). Atualmente as células secretoras da ostreatina presentes nas hifas de *P. ostreatus* são chamadas de toxocistos (CLÉMENÇON; EMMETT; EMMETT, 2004). Essas estruturas não são formadas em *Pleurotus cystidiosus* O.K. Mill., 1969 cultivado em meio ágar-água ou rico em nitrogênio, como no caso de meio LPDA (extrato de levedura, peptona, dextrose e ágar) (TRUONG et al., 2007). Baseado nessa informação estipulou-se a concentração de 50% de BDA para o teste de interação de micélio com nematoides realizado neste trabalho. Os isolados de *P. ostreatus* (LEMID-Pos01 e LEMID-Pos02) não produziram toxocistos e não imobilizaram os juvenis de *M. javanica*.

Os testes de eclosão, motilidade e mortalidade apresentaram efeitos ovicida, nematostático e nematicida dos filtrados do meio líquido de cultivo e dos extratos aquosos do substrato de cultivo de *P. ostreatus*. A retenção, purificação e avaliação do potencial nematicida da Ostreatina retida no substrato foi realizada por Kwok et al. (1992). A toxina foi obtida por meio da lavagem de grãos de trigo colonizados com o micélio fúngico, com posterior filtração, liofilização, solubilização em acetona e purificação por HPLC. A toxina ostreatina foi caracterizada como ácido *trans*-2-decenedioico (KWOK et al., 1992).

Alguns trabalhos também relataram o potencial das toxinas retidas no meio de cultivo de cogumelos. Os filtrados de culturas em meio líquido das espécies *P. ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer, Lilloa (1951), *Pleurotus cornucopiae* (Paulet) Rolland, 1910, *Pleurotus florida* Eger (sinonímia de *Pleurotus pulmonarius*) e *P. eryngii*, quando aplicado sobre juvenis de *M. javanica* durante 24 horas, resultam na imobilização de 100%, 97,1%, 80,2%, 75,7% e 44,3% dos nematoides, respectivamente (HEYDARI; POURJAM; GOLTAPPEH, 2006).

Filtrados obtidos do meio líquido colonizado por *L. edodes*, *Pleurotus* sp, *Pleurotus pulmatus*, *Oudemansiella longipes* (P. Kumm.) M.M. Moser, 1983 e *Oudemansiella mucida* (Schrad.) Höhn., 1910, aplicados sobre suspensões de *Bursaphelenchus xylophilus* Steiner & Buhner, 1934 em condições *in vitro*, resultaram na mortalidade de 57,6%, 64,1%, 86,7%, 76,8% e 58,9% dos

nematoides, respectivamente (DONG et al., 2006). Neste trabalho, foi observado o potencial ovicida, nematostático e nematicida dos filtrados do meio líquido e dos extratos aquoso do substrato de cultivo de cogumelos obtidos dos isolados de *L. edodes*. O filtrado obtido do meio líquido de cultivo do cogumelo *O. canarii* (LEMID-Oca02) também apresentou potencial ovicida, nematostático e nematicida. Os demais testes realizados com o isolado LEMID-Oca01 apresentaram somente atividade ovicida. Os isolados de *O. canarii* (LEMID-Oca01 e LEMID-Oca02), possivelmente não possuem toxinas potentes contra nematoides. Outro fungo do gênero *Oudemansiella*, o cogumelo da espécie *O. mucida* é produtor da oudemansina A natural, base para o desenvolvimento dos atuais fungicidas denominados estrubilurinas (ANKE et al., 1977, 1983; BECKER et al., 1981; BARTLETT et al., 2002).

A imobilização de nematoides da espécie *Haemonchus contortus* Rudolphi., 1803 foi testada pelo contato com isolados de *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *Pleurotus cornucopiae*, *C. comatus*, *Panus* sp Fr., 1838, *L. boryana* e *L. edodes* cultivados em placas de Petri contendo ágar-água. Os nematoides ficaram em contato com o micélio dos cogumelos durante 5 dias. Dentre os isolados testados, somente o isolado de *Panus* sp. não causou a mortalidade dos nematoides (COMANS-PÉREZ et al., 2014). Em nosso trabalho, não ocorreu imobilização de juvenis de *M. javanica* pela interação do micélio de *C. comatus* e *L. boryana*. Entretanto, os isolados de *L. edodes* (LEMID-Led01 e LEMID-Led02) cultivados em meio 50% BDA apresentaram potencial de imobilização dos nematoides após 1 h de incubação.

A espécie *C. comatus* é descrita como capaz de predar e parasitar nematoides. Entretanto, neste trabalho não houve interação direta entre o micélio e os juvenis de *M. javanica*. A estratégia de imobilização e predação de nematoides por *C. comatus* é baseada no dano mecânico causado por estruturas espinhosas produzidas pelo micélio do fungo. As hifas também secretam toxinas capazes de imobilizar e matar os nematoides (LUO et al., 2004, 2007). Luo et al. (2007) avaliaram o efeito das estruturas espinhosas no micélio em contato com o nematoide *P. redivivus*, o efeito das estruturas espinhosas purificadas, e o efeito das toxinas extraídas por solventes orgânicos. Em todos os testes ocorreu a imobilização dos nematoides, entretanto, o trabalho de Luo et al. (2007) não avaliou a extração das toxinas por água, o que pode indicar que as toxinas não são extraídas do interior da estrutura sem que ocorra a dissolução da parede da vesícula. As toxinas

produzidas por *C. comatus* são os ácidos 5-Methylfuran-3-carboxílico e 5-Hidroxi-3,5-dimethylfuran-2(5H)-ona (LUO et al., 2007). Nos resultados deste trabalho, o filtrado obtido do meio de cultura líquido colonizado por *C. comatus* apresentou potencial ovicida, nematostático e nematicida, mas o extrato aquoso do substrato de cultivo de cogumelos em serragem não apresentou atividade ovicida e nematicida contra *M. javanica*.

A ausência de atividade nematicida dos extratos aquosos do substrato de cultivo de cogumelos pode estar relacionada à composição do substrato. Para Dong et al. (2006), a influência do meio de cultura sobre a produção de toxinas é muito importante, uma vez que os filtrados de diferentes meios líquidos apresentaram toxicidades diferentes, sugerindo a produção de diferentes compostos nematicidas e/ou em diferentes quantidades.

O substrato exaurido da produção de *P. pulmonarius* cultivado em resíduo de algodão (*Gossypium hirsutum* Linnaeus., 1763) possui um total de 10,6% de proteínas e 4,2% de ácidos graxos, enquanto o resíduo de cultivo em *Panicum maximum* Jacquin., 1781 resultou em um total de 7,6% de proteínas e 0,9% de ácidos graxos (OLIVEIRA SILVA; GOMES DA COSTA; CLEMENTE, 2002). Os ácidos graxos existentes no substrato exaurido são desconhecidos, mas os extratos de *P. pulmonarius* apresentam diferentes ácidos graxos com atividade nematicida (LI et al., 2007). A aplicação do substrato exaurido de *P. ostreatus* e *Pleurotus tuberregium*, resultou no aumento da mortalidade dos juvenis, e conseqüentemente para o controle de *M. incognita* na cultura da soja (OKORIE; ONONUUJ; OKWUJIAKO, 2011). A utilização do substrato de cogumelos como medida de controle de nematoides também se torna uma alternativa para o descarte do substrato exaurido dos cogumelos. Entretanto, ainda são necessárias pesquisas para compreender a interação do substrato dos cogumelos com os nematóides nas condições de campo. A principal vantagem das toxinas produzidas pelos fungos nematófagos em relação ao controle com defensivos sintéticos está no aspecto ambiental. As toxinas produzidas pelos fungos são biodegradáveis (KWOK et al., 1992), enquanto os defensivos sintéticos podem deixar resíduos que contaminam o ambiente e intoxicam os seres vivos.

4.5 CONCLUSÕES

- i. Os filtrados do meio de cultivo líquido de cogumelos possuem atividade ovicida, nematostática e nematicida contra *M. javanica*;
- ii. Os extratos aquosos do substrato de cultivo de cogumelos possuem atividade ovicida, nematostática e nematicida contra *M. javanica*;
- iii. O micélio dos cogumelos interage com os juvenis de *M. javanica* em meio contendo 50% de BDA.

REFERÊNCIAS

AKHTAR, M. Current options in integrated management of plant-parasitic nematodes. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 2, n. 4, p. 187-197, 1997.

ALANANBEH, K. M.; BOUQELLAH, N. a.; AL KAFF, N. S. Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 6, p. 616-625, 2014.

ANKE, T.; BESL, H.; MOCEK, U.; STEGLICH, W. Antibiotics from basidiomycetes. XVIII Strobilurin C and Oudemansin B, two new antifungal metabolites from *Xerula* species (Agaricales). **The Journal of Antibiotics**, v. 36, n. 6, p. 661 - 666, 1983.

ANKE, T.; OBERWINKLER, F.; STEGLICH, W.; SCHRAMM, G. The strobilurins - New antifungal antibiotics from the basidiomycete *Strobilurus tenacellus*. **The Journal of Antibiotics**, v. 30, n. 10, p. 806-810, 1977.

BARKER, K. R.; KOENNING, S. R. Developing sustainable systems for nematode management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 36, p. 165-205, 1998.

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

BARTLETT, D. W.; CLOUGH, J. M.; GODWIN, J. R.; HALL, A. A.; HAMER, M.; PARR-DOBZANSKI, B. The strobilurin fungicides. **Pest Management Science**, v. 58, n. 7, p. 649-662, 2002.

BECKER, W. F.; VON JAGOW, G.; ANKE, T.; STEGLICH, W. Oudemansin, strobilurin A, strobilurin B and myxothiazol: new inhibitors of the bc1 segment of the respiratory chain with an E- β -methoxyacrylate system as common structural element. **FEBS Letters**, v. 132, n. 2, p. 329-333, 1981.

BELAN, L. L.; FONSECA, S. O.; ALVES, F. R.; JÚNIOR, W. C. D. J.; MATTA, F. D. P.; CABRAL, P. D. S.; RABELLO, L. K. C.; RODRIGUES, A. A. Screening of cherry tomato genotypes for resistance to *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 96-99, 2009.

BRIDGE, J. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, n. 94, p. 201-225, 1996.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, n. 1, p. 117-121, 2000.

CLÉMENÇON, H.; EMMETT, V.; EMMETT, E. **Cytology and plectology of the hymenomyces**. 1. ed. Berlim: J. Cramer, 2004.

COMANS-PÉREZ, R.; AGUILAR-MARCELINO, L.; GIVES, P. M. De; SÁNCHEZ, J.; LÓPEZ-ARELLANO, M. *In vitro* lethal capability of ten strains of edible mushrooms against *Haemonchus contortus* against (nematoda) infective larvae. In: 8th International conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8) 2014, New Delhi, India. **Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8)**. New Delhi, India: ICAR-Directorate of Mushroom Research, 2014.

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

CORRÊA, R. C. G.; DA SILVA, B. P.; CASTOLDI, R.; KATO, C. G.; DE SÁ-NAKANISHI, A. B.; PERALTA, R. A.; DE SOUZA, C. G. M.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Spent mushroom substrate of *Pleurotus pulmonarius*: a source of easily hydrolyzable lignocellulose. **Folia Microbiologica**, v. 61, n. 5, p. 439-448, 2016.

DONG, J. Y.; LI, X. P.; LI, L.; LI, G. H.; LIU, Y. J.; ZHANG, K. Q. Preliminary results on nematocidal activity from culture filtrates of Basidiomycetes against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Aphelenchoididae). **Annals of Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 163-166, 2006.

DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Desenvolvimento *in vitro* de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 331-338, 2005.

HARADA, Y.; YOSHIGA, T. Distinguishing between inactivated and dead second stage juveniles of *Meloidogyne incognita* using the NaOH method. **Nematological Research**, v. 45, n. 1, p. 51-55, 2015.

HEYDARI, R.; POURJAM, E.; GOLTAPPEH, E. M. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* *in vitro*. **Plant Pathology Journal**, v. 5, n. 2, p. 173 - 177, 2006.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - LSPA**. 2017. Disponível em:<[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistemático_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201702.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistemático_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201702.pdf)>. Acesso em 13 de março de 2017.

KIM, N.; DEMPSEY, C. M.; ZOVAL, J. V.; SZE, J. Y.; MADOU, M. J. Automated microfluidic compact disc (CD) cultivation system of *Caenorhabditis elegans*. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 122, n. 2, p. 511-518, 2007.

KWOK, O. C. H.; PLATTNER, R.; WEISLEDER, D.; WICKLOW, D. T. A nematocidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 2, p. 127-136, 1992.

LI, G.; ZHANG, K.; XU, J.; DONG, J.; LIU, Y. Nematicidal Substances from Fungi. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 212-233, 2007.

LIU, X.; XIANG, M.; CHE, Y. The living strategy of nematophagous fungi. **Mycoscience**, v. 50, n. 1, p. 20-25, 2009.

LIU, G.; LAI, D.; LIU, Q. Z.; ZHOU, L.; LIU, Z. L. Identification of nematicidal constituents of *Notopterygium incisum* Rhizomes against *Bursaphelenchus xylophilus* and *Meloidogyne incognita*. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1276, 2016.

LUO, H.; LIU, Y.; FANG, L.; LI, X.; TANG, N.; ZHANG, K. *Coprinus comatus* damages nematode cuticles mechanically with spiny balls and produces potent toxins to immobilize nematodes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 12, p. 3916-3923, 2007.

LUO, H.; MO, M.; HUANG, X.; LI, X.; ZHANG, K. *Coprinus comatus*: A basidiomycete fungus forms novel spiny structures and infects nematode. **Mycologia**, v. 96, n. 6, p. 1218-1224, 2004.

MCADAM, A. **Keys to the british general of agarics and boleti**. 1. ed. Cumbria: Summerfield Books, 2009.

NONO-WOMDIM, R.; SWAI, I. S.; MROSSO, L. K.; CHADHA, M. L.; OPENĀ, R. T. Identification of root-knot nematode species occurring on tomatoes in Tanzania and resistant lines for their control. **Plant Disease**, v. 86, n. 2, p. 127-130, 2002.

OKORIE, C. C.; ONONUJ, C. C.; OKWUJIAKO, I. a. Management of *Meloidogyne incognita* with *Pleurotus ostreatus* and *P. tuberregium* in soybean. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 13, n. 3, p. 401-405, 2011.

OLIVEIRA SILVA, S.; GOMES DA COSTA, S.; CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., substrates and residues after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 532-535, 2002.

PHAN, C. W.; SABARATNAM, V. Potential uses of spent mushroom substrate and its associated lignocellulosic enzymes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, n. 4, p. 863-873, 2012.

PUTZKE, J. Os gêneros *Pleurotus* e *Lentinus* (Agaricales, Basidiomycota, fungos) no Brasil - I: lista de espécies e chaves de identificação. **Caderno de Pesquisa série Biologia**, v. 14, n. 1, p. 67-75, 2002.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, F. S.; SOARES, J.; MIRANDA, F.; JUNIOR, D. V. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1866-1871, 2003.

SIDDIQUI, a Z.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 3, p. 229-239, 1996.

SILVEIRA, R. Da; RECK, M.; GRAF, L.; SÁ, F. De. Polypores from a Brazilian pine forest in Southern Brazil: pileate species. **Hoehnea**, v. 35, n. 4, p. 619-630, 2008.

STADLER, M.; MAYER, A.; ANKE, H.; STERNER, O. Fatty acids and other compounds with nematocidal activity from cultures of basidiomycetes. **Planta Medica**, v. 60, n. 2, p. 128 - 132, 1994.

TAYLOR, A.; SASSER, J. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. 1. ed. Raleigh, NC: North Carolina State University Graphics, 1978.

THORN, R. G.; BARRON, G. L. Carnivorous mushrooms. **Science**, v. 224, n. 4644, p. 76-78, 1984.

TRUONG, B. N.; OKAZAKI, K.; FUKIHARU, T.; TAKEUCHI, Y.; FUTAI, K.; LE, X. T.; SUZUKI, A. Characterization of the nematocidal toxocyst in *Pleurotus* subgen. *Coremiopleurotus*. **Mycoscience**, v. 48, n. 4, p. 222-230, 2007.

WATLING, R. **Identification of the larger fungi**. 1. ed. Amersham: Hulton Educational Publications, 1973.

WILLIAMS, B. C.; MCMULLAN, J. T.; MCCAHEY, S. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. **Bioresource Technology**, v. 79, n. 3, p. 227-230, 2001.

5 CONCLUSÕES GERAIS

O levantamento apontou que a Índia foi o país com mais publicações entre os anos de 1976 e 2016, seguidos pelo Brasil. A frequência das publicações apresentou picos na década de 1990 e pós anos 2000. Das 189 espécies de fungos nematófagos estudadas, a espécie mais estudada foi *Pochonia chlamydosporia*. Essas espécies de fungos tiveram como alvo 9 espécies de *Meloidogyne*, sendo *M. incognita* e *M. javanica* as mais estudadas no mundo e no Brasil, respectivamente. No mundo e no Brasil, cerca de 70% e 88% dos estudos foram realizados em condição *in vivo*, no qual *Solanum lycopersicum* foi a espécie de planta hospedeira mais estudada.

Algumas espécies de cogumelos testados apresentaram potencial nematostático e nematicida para os extratos de meio líquido de cultivo e substrato de cultivo em serragem. Somente os extratos de *C. comatus*, *G. orbiforme*, *O. canarii*, *P. udus*, *P. djamor*, *P. pulmonarius*, *P. sanguineus* e *P. eryngii* não apresentaram potencial nematostático e nematicida em alguns testes realizados.

Os testes de imobilização de nematoides pelo micélio meio ágar-água, apontaram a incapacidade dos isolados em causar a imobilização de *M. javanica*. Para os testes em meio contendo 50% de BDA, com colônias regeneradas de *G. orbiforme*, *M. titans*, *P. djamor*, *P. udus*, *P. eryngii* e *L. edodes* proporcionaram a imobilização dos juvenis. Os cogumelos caracterizados como fungos nematófagos possuem potencial para controle de *Meloidogyne javanica*, podendo permitir o desenvolvimento de novas táticas de manejo para o controle de nematoides.

REFERÊNCIAS GERAIS

ASLAM, S. Organic management of root knot nematodes in tomato with spent mushroom compost. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 29, n. 1, p. 63 - 69, 2013.

BARKER, K. R.; KOENNING, S. R. Developing sustainable systems for nematode management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 36, p. 165-205, 1998.

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

BIRD, A. F. Influence of temperature on embryogenesis in *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 4, n. 3, p. 206-213, 1972.

BORDALLO, J. J.; LOPEZ-LLORCA, L. V; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; PERSMARK, L.; ASENSIO, L. Colonization of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. **New Phytologist**, v. 154, n. 2, p. 491-499, 2002.

BRIDGE, J. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, n. 94, p. 201-225, 1996.

CADIOLI, M. C.; SANTIAGO, D. C.; DE OLIVEIRA, A. D.; PAES, V. S.; ARIEIRA, G. O.; BAIDAW, F. C. Efeito de isolados de *Paecilomyces lilacinus* no desenvolvimento de cafezais e na população de *Meloidogyne paranaensis*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 713-720, 2009.

CADIOLI, M. C.; SANTIAGO, D. C.; HOSHINO, A. T.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 305-311, 2007.

CAILLAUD, M. C.; DUBREUIL, G.; QUENTIN, M.; PERFUS-BARBEOCH, L.; LECOMTE, P.; DE ALMEIDA ENGLER, J.; ABAD, P.; ROSSO, M. N.; FAVERY, B. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 1, p. 104-113, 2008.

CALAÇA, H. A. **Dinâmica temporal e espacial da virose causada por *Tomato chlorosis virus (ToCV)* em tomateiro**. 102 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) -, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A. Efeito da temperatura na multiplicação celular, no desenvolvimento embrionário e na eclosão de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 1, p. 29-33, 2008.

CARDOSO, J. C. P.; DEMENJOUR, P. L. M. M.; PAZ, M. F. Da. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bacia e de Cana-de-açúcar pela técnica Jun-Cao. **Evidência**, v. 13, n. 1, p. 31-40, 20013.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L. C. C. B.; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P. C. O. Uptake and translocation of nitrogen, phosphorus and calcium in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 141-150, 2002.

CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. **Heredity**, v. 96, n. 4, p. 282-9, 2006.

CHARCHAR, J. M.; EISENBACK, J. D.; VIEIRA, J. V.; FONSECA-BOITEUX, M. E. D. N.; BOITEUX, L. S. *Meloidogyne polycephannulata* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing carrot in Brazil. **Journal of Nematology**, v. 41, n. 3, p. 174-86, 2009.

CHITWOOD, B. G. Root-Knot Nematodes - Part I. - A Revision of the Genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. **Proceedings of the Helminthological Society**, v. 16, n. 2, p. 90-104, 1949.

COLLANGE, B.; NAVARRETE, M.; PEYRE, G.; MATEILLE, T.; TCHAMITCHIAN, M. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis. **Crop Protection**, v. 30, n. 10, p. 1251-1262, 2011.

DELEO, J. P. B.; BRITO JUNIOR, J. de S.; PARANHOS, G. G. Custo para se produzir um hectare de tomate ultrapassa R\$ 100 mil. **Brasil Hortifruti**, v. 15, n. 157, p. 10 - 23, jun. 2016.

DONG, J. Y.; LI, X. P.; LI, L.; LI, G. H.; LIU, Y. J.; ZHANG, K. Q. Preliminary results on nematicidal activity from culture filtrates of Basidiomycetes against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Aphelenchoididae). **Annals of Microbiology**, v. 56, n. 2, p. 163-166, 2006.

DULAY, R. Aseptic cultivation of *Coprinus comatus* (O. F. Mull.) Gray on various pulp and paper wastes. **Mycosphere**, v. 3, n. 3, p. 392-397, 2012.

EAPEN, S. J.; BEENA, B.; RAMANA, K. V. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 88, n. 3, p. 218-225, 2005.

FAOSTAT. **Produção mundial**. Disponível em: <<http://www.fao.org/dd064491-58f4-4808-b553-c3890a0>>. Acesso em: 8 dez. 2016.

GOELDI, E. A. Relatório sobre a moléstia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro. **Archivos do Museu Nacional**, v. 8, p. 7 - 123, 1887.

GOODEY, T. On the nomenclature of the root-gall nematode. **Journal of Helminthology**, v. 10, n. 1, p. 21 - 28, 1932.

GREEFF, R. Ueber Nematoden in Wurzelanschwellungen (Gallen) verschiedener Pflanzen. **Sitzber. Gesell. Beförd. Gesam. Naturw. Marburg**, v. 1872, n. 11, p. 172 - 174, 1872.

HEYDARI, R.; POURJAM, E.; GOLTAPPEH, E. M. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* *in vitro*. **Plant Pathology Journal**, v. 5, n. 2, p. 173 - 177, 2006.

HIBBETT, D. S.; THORN, R. G. Nematode-Trapping in *Pleurotus tuberregium* nematode-trapping in *Pleurotus tuberregium*. **Mycologia**, v. 86, n. 5, p. 696-699, 1994.

HUGO, H. J.; MALAN, A. P. Occurrence and control of plant-parasitic nematodes in irrigation water - a review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 31, n. 2, p. 169-180, 2010.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot nematodes**. 1. ed. Wallingford - UK: CABI, 2009. p. 55 - 97.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - LSPA**. 2017. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201702.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201702.pdf)>. Acesso em 13 de março de 2017.

JOBERT, C. Sur une maladie du caféier observée au Brésil. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 87, p. 941 - 943, 1878.

KASKAVALCI, G.; ÖNCÜER, C. Investigations on the distribution and economic importance of *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Tylenchida: Meloidogynidae) species found in the major areas of hot climate vegetables in Aydin province. **Turkish Journal of Entomology**, v. 23, n. 2, p. 149-160, 1999.

KIRKPATRICK, T. L.; OOSTERHUIS, D. M.; WULLSCHLEGER, S. D. Interaction of *Meloidogyne incognita* and water stress in two cotton cultivars. **Journal of Nematology**, v. 3, n. 4, p. 462-467, 1991.

LIU, X.; XIANG, M.; CHE, Y. The living strategy of nematophagous fungi. **Mycoscience**, v. 50, n. 1, p. 20-25, 2009.

LOPES, C. A.; AVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. 2. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005.

LOPES, C. A.; REIS, A. Doenças do tomateiro cultivado em ambiente protegido. **Embrapa Hortaliças, Circular técnica**, v. 100, p. 26, 2011.

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

LUO, H.; LIU, Y.; FANG, L.; LI, X.; TANG, N.; ZHANG, K. *Coprinus comatus* damages nematode cuticles mechanically with spiny balls and produces potent toxins to immobilize nematodes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 12, p. 3916-3923, 2007.

LUO, H.; MO, M.; HUANG, X.; LI, X.; ZHANG, K. *Coprinus comatus*: A basidiomycete fungus forms novel spiny structures and infects nematode. **Mycologia**, v. 96, n. 6, p. 1218-1224, 2004.

MARTIN, F. N. Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with Methyl Bromide. **Annual Review of Phytopathology**, v. 41, n. 1, p. 325 - 350, 2003.

MUKHTAR, T.; PERVAZ, I. *In vitro* evaluation of ovicidal and larvicidal effects of culture filtrate of *Verticillium chlamydosporium* against *Meloidogyne javanica*. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 5, n. 4, p. 576-579, 2003.

NUNES, H. T.; MONTEIRO, A. C.; POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 403-409, 2010.

NYCZEPIR, A. P.; THOMAS, S. H. Current and future management strategies in intensive crop production systems. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot nematodes**. 1. ed. Wallingford, UK: CAB International, 2009. p. 412 - 443.

OKORIE, C. C.; ONONUJ, C. C.; OKWUJIAKO, I. a. Management of *Meloidogyne incognita* with *Pleurotus ostreatus* and *P. tuberregium* in soybean. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 13, n. 3, p. 401-405, 2011.

PHAN, C. W.; SABARATNAM, V. Potential uses of spent mushroom substrate and its associated lignocellulosic enzymes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, n. 4, p. 863-873, 2012.

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B.; SUINAGA, F. A. Manejo de nematoides na cultura do tomate. **Embrapa Hortaliças, Circular técnica**, v. 132, p. 12, 2005.

QUEZADO-DUVAL, A. M.; INOUE-NAGATA, A. K.; REIS, A.; PINHEIRO, J. B.; LOPES, C. A.; ARAÚJO, E. R.; FONTENELLE, M. R.; COSTA, J. R.; GUIMARÃES, C. M. N.; ROSSATO, M.; BECKER, W. F.; COSTA, H.; FERREIRA, M. A. S. V.; DESTÉFANO, S. A. L. Levantamento de doenças e mosca-branca em tomateiro em regiões produtoras no Brasil. **Embrapa Hortaliças, Boletim Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 100, p. 36, 2013.

REYES, R. G.; LOU, L.; LOPEZ, M. A.; KUMAKURA, K.; KALAW, S. P. *Coprinus comatus*, a newly domesticated wild nutraceutical mushroom in the Philippines. **Journal of Agricultural Technology**, v. 5, n. 2, p. 299-316, 2009.

RIBAS, L. C. C.; DE MENDONÇA, M. M.; CAMELINI, C. M.; SOARES, C. H. L. Use of spent mushroom substrates from *Agaricus subrufescens* (syn. *A. blazei*, *A. brasiliensis*) and *Lentinula edodes* productions in the enrichment of a soil-based potting media for lettuce (*Lactuca sativa*) cultivation: Growth pro. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 20, p. 4750-4757, 2009.

ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. S. Reação de genótipos e híbridos de tomateiro à *Meloidogyne enterolobii*. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1166-1171, 2014.

SASSER, J. N. Worldwide dissemination and importance of the root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. **Journal of Nematology**, v. 9, n. 1, p. 26-29, 1977.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, F. S.; SOARES, J.; MIRANDA, F.; JUNIOR, D. V. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1866-1871, 2003.

SEID, A.; FININSA, C.; MEKETE, T.; DECRAEMER, W.; WESEMAEL, W. M. L. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) - a century-old battle. **Nematology**, v. 17, n. 9, p. 995-1009, 2015.

SIDDIQUI, Z. A. .; IQBAL, A.; MAHMOOD, I. Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. **Applied Soil Ecology**, v. 16, n. 2, p. 179-185, 2001.

SIKORA, R. a. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, n. 1, p. 245 - 270, 1992.

SILVA, R. R. **Biorremediação de solos contaminados com organoclorados por fungos basidiomicetos em biorreatores**. 186 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Estado de São Paulo, São Paulo, 2009.

TAYLOR, A.; SASSER, J. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. 1. ed. Raleigh, NC: North Carolina State University Graphics, 1978.

THORN, R. G.; BARRON, G. L. Carnivorous mushrooms. **Science**, v. 224, n. 4644, p. 76-78, 1984.

TRIANAPHYLLOU, A. C. Oogenesis in the root-knot nematode *Meloidogyne Javanica*. **Nematologica**, v. 7, n. 2, p. 105-113, 1962.

TRUDGILL, D. L. An assessment of the relevance of thermal time relationships to nematology. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 18, n. 5, p. 407-417, 1995.

TRUDGILL, D. L.; BLOK, V. C. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: Exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, n. 1, p. 53-77, 2001.

WILLIAMS, B. C.; MCMULLAN, J. T.; MCCAHEY, S. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. **Bioresource Technology**, v. 79, n. 3, p. 227-230, 2001.

APÊNDICE A

APÊNDICE 1 - RESUMO DOS RESULTADOS OBTIDOS PARA OS TESTES COM *Meloidogyne javanica*

Isolado	Filtrado			Extrato aquoso			Predação		
	Ecl.	Mot.	Mor.	Ecl.	Mot.	Mor.	AA Int.	AA Reg.	BDA 50%
LEMID-Abi01	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Cco01	+	+	+	-	+	-	-	-	-
LEMID-Gor01	+	+	+	-	+	-	-	-	+
LEMID-Lbo01	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Led01	+	+	+	+	+	+	-	-	+
LEMID-Led02	+	+	+	+	+	+	-	-	+
LEMID-Lsp01	+	+	+	+	+	-	-	-	-
LEMID-Lsp02	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Mti01	+	+	+	+	+	+	-	-	+
LEMID-Oca01	+	-	-	+	-	-	-	-	-
LEMID-Oca02	+	+	+	-	+	-	-	-	-
LEMID-Pdj01	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Pdj02	+	+	-	+	-	-	-	-	+
LEMID-Per01	+	+	+	+	+	+	-	-	+
LEMID-Per02	+	+	+	+	+	-	-	-	-
LEMID-Pos01	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Pos02	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Ppu01	+	+	+	-	+	+	-	-	-
LEMID-Ppu02	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Ppu03	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Ppu04	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Psa01	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LEMID-Psa02	+	+	+	-	-	-	-	-	-
LEMID-Pud01	-	+	-	-	+	+	-	-	+

Ecl. = taxa de juvenis eclodidos; Mot. = taxa de juvenis imobilizados; Mor. = taxa de juvenis mortos; AA Int. = micélio intacto cultivado em meio ágar-água; AA Reg. = micélio regenerado cultivado em meio ágar-água; 50% BDA = micélio regenerado cultivado em meio contendo 50% da concentração padrão de BDA.

APÊNDICE B

APÊNDICE B - 1 - PLANTAS DE TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum* CV. SANTA CLARA) CULTIVADAS EM CASA-DE-VEGETAÇÃO DO CENTRO DE DIAGNÓSTICO MARCOS ENRIETTI DA ADAPAR, NO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 17/11/2015.



APÊNDICE B - 2 - SUBSTRATO DE COGUMELOS PRODUZIDO COM SERRAGEM GROSSEIRA, FARELO DE TRIGO, CALCÁRIO AGRÍCOLA E GESSO, NA PROPORÇÃO 88:10:1:1 (V V⁻¹) E EMBALADO EM SACOS DE POLIPROPILENO FECHADO COM ROLHA DE ESPUMA E ELÁSTICO DE LÁTEX. SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 09/10/2015.



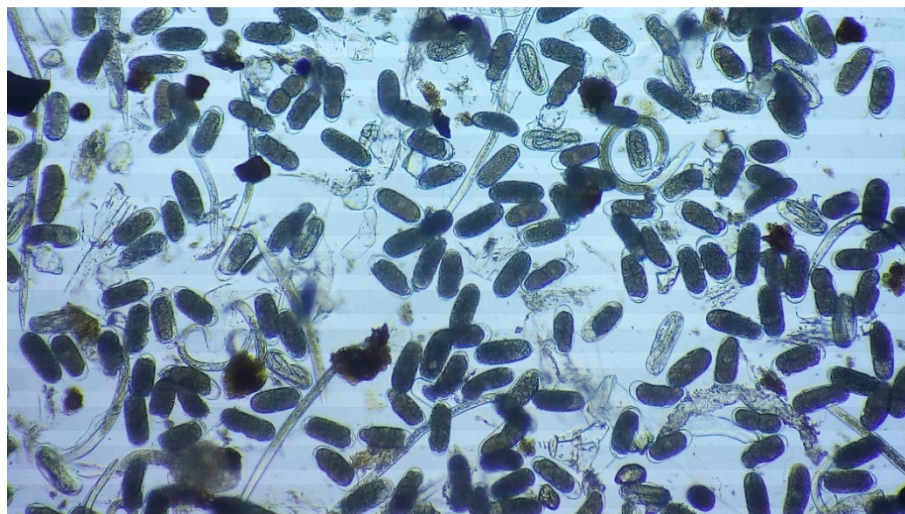
APÊNDICE B - 3 - INCUBAÇÃO DO SUBSTRATO INFESTADO PELOS ISOLADOS DE COGUMELOS ATÉ 40 DIAS. OS SUBSTRATOS FORAM INCUBADOS EM SALA ESCURA COM TEMPERATURA MÉDIA DE 25 °C E UMIDADE RELATIVA SUPERIOR A 90% PARA FAVORECER A COLONIZAÇÃO DO SUBSTRATO. SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 13/10/2015.



APÊNDICE B - 4 - INCUBAÇÃO DO SUBSTRATO INFESTADO PELOS ISOLADOS DE COGUMELOS. APÓS 40 DIAS OS SUBSTRATOS FORAM INCUBADOS EM SALA COM BAIXA LUMINOSIDADE, TEMPERATURA AMBIENTE E UMIDADE RELATIVA SUPERIOR A 90% (NEBULIZAÇÃO) PARA FAVORECER O DESENVOLVIMENTO DOS CORPOS DE FRUTIFICAÇÃO. SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 16/11/2015.



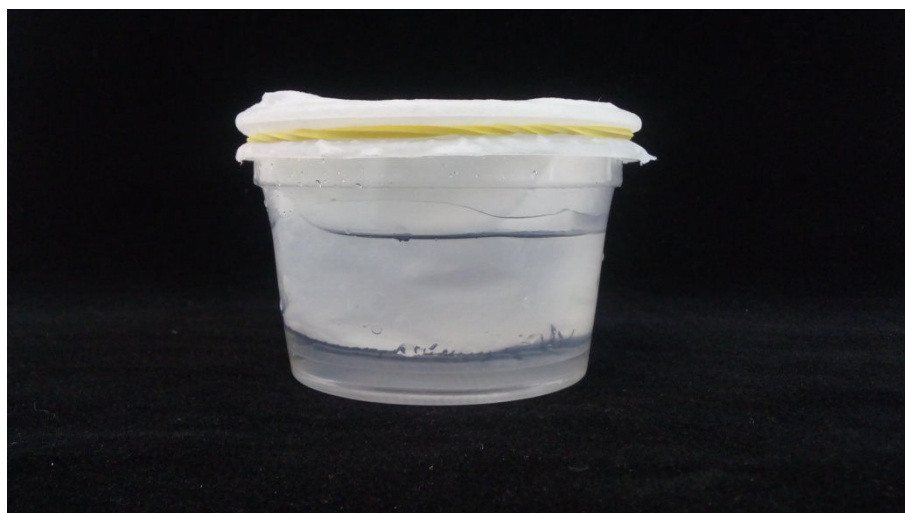
APÊNDICE B - 5 - SUSPENSÃO DE OVOS OBTIDA PELA EXTRAÇÃO DE NEMATOIDES DE RAÍZES DE TOMATEIROS. SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 18/05/2016.



APÊNDICE B - 6 - MONTAGEM DE EXPERIMENTOS EM AMPOLAS DE VIDRO COM CAPACIDADE DE 10 mL. SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 29/01/2017.



APÊNDICE B - 7 - CÂMARA DE ECLOSÃO MONTADA COM A SOBREPOSIÇÃO DE DOIS FRASCOS PLÁSTICOS, SENDO O FRASCO INTERNO COM FUNDO TELADÓ. O FRASCO INTERNO FOI REVESTIDO COM PAPEL FILTRO, ONDE FOI DEPOSITADA A SUSPENSÃO DE OVOS. SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 29/01/2017.



APÊNDICE B - 8 - SUSPENSÃO DE JUVENIS OBTIDA APÓS 72 HORAS DE CÂMARA DE ECLOSÃO. SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ EM CURITIBA NO DIA 29/01/2017.

