



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GABRIEL RIBEIRO DE LIMA

**FUNGOS NO ANTAGONISMO DE OVOS DE *Heterodera
glycines* e *Meloidogyne incognita***

Londrina
2023

GABRIEL RIBEIRO DE LIMA

FUNGOS NO ANTAGONISMO DE OVOS DE *Heterodera glycines* e *Meloidogyne incognita*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de mestre em Agronomia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Débora Cristina Santiago

Londrina
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

L732f Lima, Gabriel Ribeiro de.
FUNGOS NO ANTAGONISMO DE OVOS DE *Heterodera glycines* e *Meloidogyne incognita* / Gabriel Ribeiro de Lima. - Londrina, 2023.
45 f. : il.

Orientador: Débora Cristina Santiago.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2023.
Inclui bibliografia.

1. Fungos parasita de ovos - Tese. 2. Fungos sapróbios - Tese. 3. Nematóide de cisto da soja - Tese. 4. Nematóide das galhas radiculares - Tese. I. Cristina Santiago, Débora. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

GABRIEL RIBEIRO DE LIMA

FUNGOS NO ANTAGONISMO DE OVOS DE *Heterodera glycines* e *Meloidogyne incognita*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Débora Cristina Santiago

Prof^a

Universidade Estadual de Londrina - UEL

Leandro Simões Azevedo Gonçalves

Prof.

Universidade Estadual de Londrina - UEL

Adriely Almeida

Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 31 de Janeiro de 2023.

LIMA, Gabriel Ribeiro de. **Fungos no antagonismo de ovos de *Heterodera glycines* e *Meloidogyne incognita***. 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

RESUMO

Os problemas fitossanitários são limitantes para alcançar o potencial produtivo das culturas agrícolas, dentre esses destacam-se os fitonematoides, das mais diversas espécies e encontradas em muitas áreas de cultivo. Para adequado controle deve-se utilizar múltiplas ferramentas de forma integrada, englobando práticas culturais, cultivares resistentes ou com baixo fator de multiplicação, além do uso de nematicidas químicos e biológicos. Pesquisas para o desenvolvimento de nematicidas biológicos têm sido intensificadas na busca do desenvolvimento sustentável da agricultura. Assim, torna-se necessária a investigação da capacidade e viabilidade de microrganismos isoláveis e multiplicáveis massivamente para o controle deste fitoparasita. Dentre os organismos antagônicos, determinadas espécies possuem potencial e características adequadas para serem utilizadas como agentes de biocontrole, principalmente bactérias e fungos, com eficiência e compatíveis com o manejo sustentável. Certos fungos possuem ação de parasitismo contra nematoides, onde as hifas são adaptadas para captura de formas móveis outros são capazes de digerir a cutícula e o conteúdo de ovos para sua própria nutrição. Destaca-se, também, a atividade tóxica de alguns isolados pela síntese de metabólitos secundários. A presente Dissertação está dividida em dois Artigos. No “Artigo A” se objetivou avaliar a antibiose *in vitro* de isolados dos fungos *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Stachybotrys levispora*, *Myrothecium* sp., *Phialomyces macrosporus*, *Periconia hispidula*, *Stachybotrys globosa* e *Volutella minima* sobre ovos de *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*. Como resultado, observou-se que isolados de *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* apresentaram ação antagônica sobre ovos de *M. incognita* e *H. glycines*, dentre estes com atividade antagônica para ambas as espécies dos nematoides. Outro importante resultado, foi a primeira constatação da ação antagônica de *S. levispora*, *P. hispidula* e *S. globosa* sobre ovos de *H. glycines*. No “Artigo B”, os objetivos foram (i) registrar as características de fungos isolados a partir de cistos de *H. glycines*, e (ii) verificar *in vitro* a capacidade antagônica destes isolados sobre ovos de *M. incognita*. Para tanto, foram selecionadas cinco placas com desenvolvimento de micélio representando a diversidade morfológica de fungos isolados, na sequência estes foram novamente repicados e incubados, sendo avaliados ao quarto e décimo dia o aspecto das colônias, desenvolvimento de hifas, presença de esporangióforos e esporos. Com base nessas características morfológicas três isolados foram classificados previamente como pertencentes aos gêneros *Mortierella*, *Fusarium* e *Rhizoctonia*. Nos testes *in vitro* contra massas de ovos *Meloidogyne incognita*, o isolado tido como sendo *Rhizoctonia* apresentou resultados similares aos isolados de *P. lilacinum* com as maiores porcentagens de alteração dos ovos.

Palavras-chave: Fungos parasita de ovos. Fungos sapróbios. Nematóide de cisto da soja. Nematóide das galhas radiculares.

LIMA, Gabriel Ribeiro de. **Fungus in the antagonism of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* eggs**. 2022. Dissertation (Master in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

Phytoparasitism is limiting in achieving the productive potential of agricultural crops, among which phytonematodes stand out, of the most diverse species and found in many cultivation areas. For adequate control, multiple tools must be used in an integrated manner, encompassing cultural practices, resistant cultivars or those with a low multiplication factor, in addition to the use of chemical and biological nematicides. Research into the development of biological nematicides has been intensified in the search for sustainable agricultural development. Therefore, it is necessary to investigate the capacity and viability of isolatable and massively multiplyable microorganisms to control this phytoparasite. Among the antagonistic organisms, certain species have the potential and suitable characteristics to be used as biocontrol agents, mainly bacteria and fungi, efficiently and compatible with sustainable management. Certain fungi have parasitic action against nematodes, where the hyphae are adapted to capture mobile forms; others can digest the cuticle and egg contents for their own nutrition. Also noteworthy is the toxic activity of some isolates due to the synthesis of secondary metabolites. This Dissertation is divided into two Articles. “Article A” aimed to evaluate the in vitro antibiosis of isolates of the fungi *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Stachybotrys levispora*, *Myrothecium* sp., *Phialomyces macrosporus*, *Periconia hispidula*, *Stachybotrys globosa* and *Volutella minima* on eggs of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines*. As a result, it was observed that isolates of *P. lilacinum* and *P. chlamydosporia* presented antagonistic action on eggs of *M. incognita* and *H. glycines*, among these with antagonistic activity for both nematode species. Another important result was the first observation of the antagonistic action of *S. levispora*, *P. hispidula* and *S. globosa* on *H. glycines* eggs. In “Article B”, the objectives were (i) to record the characteristics of fungi isolated from *H. glycines* cysts, and (ii) to verify in vitro the antagonistic capacity of these isolates against *M. incognita* eggs. To this end, five plates with mycelium development representing the morphological diversity of isolated fungi were selected. These were then picked again and incubated, with the appearance of the colonies, hyphae development, presence of sporangiophores and spores being evaluated on the fourth and tenth day. Based on these morphological characteristics, three isolates were previously classified as belonging to the genera *Mortierella*, *Fusarium* and *Rhizoctonia*. In in vitro tests against *Meloidogyne incognita* egg masses, the isolate considered to be *Rhizoctonia* showed similar results to the *P. lilacinum* isolates with the highest percentages of egg changes.

Keywords: Egg parasite fungi. Root-knot nematode. Saprobic fungi. Soybean cyst nematode.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 FITONEMATOIDES	8
2.1.1 Nematoides Das Galha	9
2.1.2 Nematóide De Cisto Da Soja	10
2.2 MANEJO E CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATOIDES	11
2.2.1 Modos De Ação De Antagonistas De Nematoides	12
2.3 FUNGOS SAPRÓBIOS	13
2.3.1 <i>Purpureocillium lilacinum</i> E <i>Pochonia chlamydosporia</i>	14
3 ARTIGO A	16
3.1 RESUMO	16
3.2 ABSTRACT	17
3.3 INTRODUÇÃO	18
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
3.6 CONCLUSÃO	25
4 ARTIGO B	26
4.1 RESUMO	26
4.2 ABSTRACT	27
4.3 INTRODUÇÃO	28
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.5.1 Características Dos Isolados Fúngicos	29
4.5.2 Antagonismo Sobre Ovos De <i>M. incognita</i>	34
4.6 CONCLUSÃO	36
5 CONCLUSÕES GERAIS	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

As plantas sendo a base da cadeia trófica são capazes de garantir e equilibrar o desenvolvimento de diferentes populações de organismos no ambiente do solo. Seus exsudatos radiculares são substrato para o crescimento e alimentação de microrganismos, criando próximo as raízes um ambiente distinto do restante do solo, a rizosfera.

Alguns destes organismos evoluíram como parasitas de plantas, e agentes causais de doenças, enquanto outros se aperfeiçoaram em relações favoráveis e simbióticas com as raízes, como promotores de crescimento, disponibilizadores de nutrientes, entre outras relações.

Dentre os organismos parasitas de plantas, estão os fitonematoides, capazes de causar danos economicamente significativos em muitos dos ambientes e culturas agrícolas (LI *et al.*, 2015). Sendo os nematoides das galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.) responsáveis por mais da metade das perdas estimadas de 100 a 150 bilhões de dólares (LI *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2016).

Por outro lado, os fitonematoides, também, possuem inimigos naturais e podem ser parasitados por outros organismos, principalmente, bactérias e fungos, sendo alguns destes utilizados como agentes de biocontrole e integrando as estratégias para manejo em áreas de cultivo, a exemplo dos fungos *Purpureocillium lilacinum* e *Pochonia chlamydosporia* (LI *et al.*, 2015).

Para compor as estratégias de manejo integrado, que implica na utilização de práticas como a rotação de culturas, uso de cultivares com baixo fator de multiplicação de fitonematoides, utilização de nematicidas químicos e biológicos, compatíveis ou até mesmo que complementem seus modos de ação, mantendo as populações de fitonematoides abaixo dos limiares de danos econômicos, de forma eficiente e ambientalmente sustentáveis (ZHAI *et al.*, 2018).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar diferentes espécies de fungos sapróbios capazes de parasitar ou inviabilizar ovos e/ou cistos de cistos de *Heterodera glycines* assim como ovos de *Meloidogyne incognita in vitro*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FITONEMATOIDES

Nematoides são animais pertencentes ao filo *Nematoda*, caracterizados por seu corpo vermiforme, cilíndrico e alongado. São os metazoários mais abundantes da biosfera, ocupando ambientes terrestres e aquáticos (SANTOS, 2017). Nos solos, os nematoides podem ser classificados de acordo com seus grupos funcionais, sendo eles: bacteriófagos, micófagos, predadores, onívoros (tidos como vida livre) ou fitoparasitas (MUFTAH ELTARIKI; TIWARI; ALHOOT, 2010).

Para muitos nematoides fitoparasitas (fitonematoides), nem sempre está claro o dano que causam às culturas agrícolas, e suas conseqüentes perdas econômicas. Seja pela falta de identificação e levantamento das suas populações nas áreas, ou sendo atribuídas as suas perdas a outros fatores adversos à produção (DIAS-ARIEIRA *et al.*, 2010), ou por serem patógenos emergentes em populações com baixa agressividade (MACHADO; AMARO; SILVA, 2019)

As características dos danos e sintomas causados nas plantas pelos fitonematoides estão relacionadas ao seu comportamento parasítico: os migradores, como os do gênero *Pratylenchus* usam seu estilete para perfurar as células das raízes e alimentar-se do seu conteúdo, gerando necroses; enquanto fitonematoides sedentários, como os do gênero *Meloidogyne*, são parasitas mais evoluídos (SILVA *et al.*, 2008) pois usam seu estilete para injetar toxinas e enzimas que alteram a forma e função de algumas células do hospedeiro das quais se alimentam, porém convivem por maior tempo com a planta até que as leve à morte (RODIUC *et al.*, 2014).

Reduções expressivas na produção agrícola em todo mundo são causadas pelos fitonematoides sedentários, parasitas obrigatórios, que estabelecerem um sítio de alimentação na raiz do hospedeiro, espoliam parte dos fotoassimilados da planta, gerando desbalanços energéticos e multiplicam-se massiva e rapidamente ao logo dos ciclos de cultivo (LI *et al.*, 2015).

Representantes importantes do grupo de fitonematoides sedentários são *Meloidogyne incognita*, capaz de parasitar culturas anuais, perenes, hortaliças ou plantas espontâneas (SILVA; SANTOS; SILVA, 2016; BELLÉ *et al.*, 2017), e *Heterodera glycines*, por parasitar leguminosas, principalmente a cultura da soja uma importante commodity mundialmente (XIANG; LAWRENCE; DONALD, 2018).

2.1.1 Nematoides Das Galhas

Nematoides das galhas é o termo comum usado para designar os nematoides do gênero *Meloidogyne*, assim a doença causada em plantas por esses organismos pode ser chamada de meloidoginose. Os nematoides das galhas possuem ampla gama de hospedeiros desde plantas cultivadas, silvestres e espontâneas, ocorrendo, ainda, raças fisiológicas caracterizadas pela habilidade do nematoide parasitar ou não uma combinação específica de plantas diferenciadoras (SILVA; SANTOS; SILVA, 2016). Para a cultura da soja as principais espécies parasitas são *M. javanica* e *M. incognita*, sendo a primeira de ocorrência generalizada e a segunda predominante em áreas anteriormente cultivadas com café ou algodão, e a (DIAS *et al.*, 2010).

Como o nome comum sugere, um dos principais sintomas é a formação de galhas, engrossamento provocando alterações das raízes induzidas pelo fitonematoide. Este sintoma, entretanto, pode não se manifestar em alguns patossistemas. Como resultado dessas alterações morfofisiológicas as raízes desempenham suas funções de absorção de água e nutrientes de forma deficitária o que resulta em plantas, geralmente distribuídas em reboleiras, que apresentam crescimento reduzido, clorose e deficiência nutricional, que são considerados sintomas reflexos na parte aérea (MIORANZA *et al.*, 2017).

Sobre o parasitismo de *Meloidogyne* spp., o engrossamento das raízes dos hospedeiros, que resulta na formação das galhas, ocorre devido a hiperplasia de células do periciclo. Concomitantemente, ocorre a hipertrofia de células do cilindro central, fenômeno em que há aumento de volume celular e sucessivas divisões de núcleos, culminando na formação dos cenócitos, células gigantes que servem como sítio de alimentação para o estabelecimento e nutrição do nematoide das galhas (BRASS *et al.*, 2008; DE SOUZA *et al.*, 2015).

As meloidoginoses podem ser consideradas doenças policíclicas pois seus agentes causais apresentam múltiplos ciclos de vida em um único ciclo do hospedeiro, geralmente em três semanas, tempo influenciado principalmente pela temperatura. Produzem em média de 400 a 500 ovos a partir de partenogênese obrigatória ou facultativa, a depender da espécie, portanto dispensando a presença de machos para reprodução (MATTOS, 2017).

Para permitir um sistema reprodutivo capaz de elevada produção de

ovos, após estabelecimento do sítio de alimentação, a fêmea *Meloidogyne* spp. de adquire forma aberrante piriforme e perde a capacidade de se mover, portanto tornando-se sedentária. Assim a oviposição ocorre de forma concentrada junto à região posterior do corpo, em que a fêmea também produz uma matriz gelatinosa que envolve os ovos, compondo a estrutura normalmente chamada de massa de ovos, tendo a função de proteção contra a desidratação e fatores adversos do ambiente (PINHEIRO *et al.*, 2013).

Mesmo que a presença dos machos seja facultativa para reprodução de algumas espécies de *Meloidogyne*, sua ocorrência é um mecanismo de sobrevivência, pois ocorrem em situações desfavoráveis como superpopulação, garantindo sítios de alimentação e fotoassimilados para parte dos indivíduos e diversidade genética a seus ovos. Os machos são oriundos da reversão sexual, fenômeno em que juvenis aberrantes de quarto estágio (fundamentalmente fêmeas imaturas) em sua última ecdise tornam-se machos filiforme móveis, capazes de fertilizar fêmeas, entretanto com estilete atrofiado sem capacidade parasítica, razão pela qual migram para o solo e tem uma vida curta (MATTOS, 2017).

2.1.2 Nematóide De Cisto Da Soja

Para a cultura da soja, em termos de potencial de danos, a principal espécie de fitonematóide é *Heterodera glycines*, um endoparasita sedentário, conhecido como nematóide de cisto da soja. O cisto constitui-se da cutícula enrijecida da fêmea morta retendo dentro de si a maior parte dos ovos que ela produziu durante seu ciclo de vida, sendo em média de 200 a 600 ovos. Os machos não apresentam atividade parasítica, sua função é garantir a reprodução sexuada por anfimixia da espécie, por isso saem das raízes para fertilizar as fêmeas em sua forma aberrante exteriorizada (MACÊDO, 2020).

O cisto do nematóide garante aos seus ovos uma grande longevidade por torná-los resistentes à dessecação e condições adversas do ambiente. Na ausência de culturas hospedeiras que estimulem a eclosão dos nematoides juvenis, estes podem permanecer viáveis dentro dos ovos, abrigados no interior dos cistos, até por oito anos (GRIGOLLI; ASMUS, 2014).

A ação espoliadora de fotoassimilados da planta por *H. glycines* se dá através do sincício, células gigantes geradas pela da degradação parcial das células

da raiz sob influência das enzimas e toxinas injetadas pelo fitonematoide. Junto a isso o desenvolvimento normal das raízes é comprometido, o que agrava os sintomas de deficiência nutricional do hospedeiro e, dependendo do nível populacional na área, pode resultar na perda considerável de produtividade e, conseqüente, morte das plantas (MACÊDO, 2020; RODIUC *et al.*, 2014).

Infestações por *H. glycines* em áreas de cultivo de baixa fertilidade, com suprimento de água insuficiente ou com população grande do fitonematoide geram sintomas reflexos na parte aérea das plantas, como porte reduzido e intensa clorose delimitada pelas nervuras nas folhas, normalmente aparecem em reboleiras, o que dá origem ao nome popular da doença como nanismo amarelo da soja (DIAS *et al.*, 2009).

2.2 MANEJO E CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATÓIDES

As medidas para manejo de fitonematóides englobam: uso de cultivares resistentes ou com menor suscetibilidade, considerando o fator de reprodução do hospedeiro para a espécie incidente de fitonematoide; solarização para pequenos volumes de substrato e áreas como canteiros e casas de vegetação (tendo como desvantagem a perda da maior parte da microbiota além do patógeno); rotação de cultura com espécies de adubo verde, não hospedeiras, e plantas armadilhas que estimulam a eclosão dos nematoides mas não permitem a colonização e multiplicação eficiente; e por fim, uso de produtos com princípios ativos químicos e biológicos. Lembrando que os melhores resultados de controle serão obtidos quando estes métodos são empregados de forma integrada (CASTRO; MOREIRA, 2012).

Solos supressores apresentam um equilíbrio biológico, ou seja, a microbiota natural do solo é responsável por manter reduzida a população de fitonematóides evitando explosões populacionais que resultam em danos pela infecção. Na tentativa de mimetizar esse mecanismo pode-se, ainda, utilizar espécies de adubo verde e aplicações de microrganismos que desempenham atividades de alelopatia, predação, parasitismo ou outros mecanismos contra os fitonematóides (XIANG; LAWRENCE; DONALD, 2018).

Mesmo que algumas plantas armadilhas e alelopáticas atendam a definição de agente de controle biológico por reduzirem a população de fitonematóides elas normalmente são associadas ao manejo cultural (CARNEIRO; CARVALHO;

KULCZYNSKI, 1998). Assim, o foco para agentes de controle biológico é voltado para microrganismos, em especial, fungos e bactérias.

Entretanto, para um microrganismo poder ser utilizado em um programa de manejo, além do antagonismo este deve atender a alguns requisitos como: não ser prejudicial à saúde humana, culturas agrícolas e meio ambiente; ser resistente e prolífero em condição natural, e diferentes substratos; e de fácil produção massal em laboratório ou biofábrica (FERRAZ *et al.*, 2010).

2.2.1 Modos De Ação De Antagonistas De Nematoides

Uma característica comum dos agentes antagônicos a nematoides é que, frequentemente, não possuem espectro exclusivo sobre uma determinada espécie de fitonematoide, e podem se alimentar de outros nematoides de vida livre e outros animais do solo como artrópodes, isso garante a sobrevivência deles nos ambientes com população diversa de espécies. Como é o caso de *Purpureocillium lilacinum*, fungo parasita de ovos de nematoides e entomopatogênico (MEDEIROS, 2016; CASTILLO LOPEZ *et al.*, 2014).

Apesar da não especificidade, os microrganismos utilizados no manejo de fitonematoides são seguros para os espécimes de vida livre e outros animais, esperados e quistos no solo. Pois a multiplicação de espécies fitopatogênicas é sempre próxima a raiz, área de intensa atuação dos microrganismos de biocontrole, por consequência a população alvo é reduzida drasticamente (DALLEMOLE-GIARETTA *et al.*, 2015).

O modo de ação indireto de antagonismo sobre nematoides, não exclusivo de fungos, é a produção de toxinas, relacionado ao metabolismo secundário. São substâncias que se difundem no solo e são capazes de adentrar a cutícula dos nematoide, em alguns casos a casca do ovo, podendo ter efeito nematostático paralisando o nematoide, ao menos dificultando a mobilidade e eclosão, ou nematicida causando a morte de ovos, juvenis ou adultos (LI *et al.*, 2015). Outra etapa que as toxinas podem prejudicar é na quimiotaxia dos fitonematoides, processo de orientação no solo para encontrar as raízes através do gradiente de concentração de exsudados radiculares (RASMANN *et al.*, 2012; PACHECO *et al.*, 2022)

A ação direta dos fungos nematófagos pode ocorrer sobre as formas móveis dos nematoides, juvenis e adultos migradores, ou as formas imóveis, ovos e

fêmeas sedentárias. Fungos endoparasíticos, frequentemente parasitas obrigatórios, se adaptaram para infectar nematoides móveis através da produção de esporos adesivos que se aderem à superfície no momento do contato e a partir deles colonizam o corpo do nematoide. Outra estratégia que fungos podem apresentar é a interceptação dos nematoides móveis através da produção de estruturas armadilhas, que os prendem por tempo o suficiente para ocorrer a infecção e colonização, variando na forma, podem ser do tipo anéis constritores, ou não, e redes adesivas e/ou tridimensionais. Por fim, para atuar sobre as formas imóveis os parasitas de ovos e fêmeas produzem quitinases, além de outras enzimas também sintetizadas pelos parasitas de formas móveis, pois a quitina é um componente da casca dos ovos (LI *et al.*, 2015).

Identificando seu modo de ação, a recomendação do agente de biocontrole de fitonematoide baseia-se nas vantagens que suas adaptações o concedem sobre grupos desses patógenos, sendo: fungos endoparasitas e produtores de armadilhas, altamente adaptados para infectar estádios móveis predominante em espécies migradoras.; fungos parasitas de ovos e fêmeas são muito agressivos para espécies sedentárias por realizarem oposição concentrada facilitando a colonização de grande parte dos ovos; enquanto a especificidade de produtores de toxinas depende das características da substância sintetizada, não sendo incomum que fungos nematófagos tenham a produção de toxinas como segundo modo de ação (FERRAZ *et al.*, 2010). A exemplo de isolados de *P. lilacinum* parasita de ovos de nematoides que produzem filtrados com ação antagônica sobre juvenis e ovos (VERDEJO LUCAS *et al.*, 2009; BUSTOS; PAVAS; FERNÁNDEZ, 2014; YOUSSEF; EL-NAGDI; LOTFY, 2020).

2.3 FUNGOS SAPRÓBIOS

Alguns fungos primariamente decompositores (sapróbios) e até mesmo parasitas facultativos sintetizam metabólitos secundários com atividade antagonista sobre fitonematoides, podendo ser utilizados como componentes de produtos comerciais para manejo desses patógenos, a exemplo de DiTera®, fermentado a base de *Myrothecium verrucaria*, que atua sobre ovos e juvenis recém eclodidos de muitas espécies (WARRIOR *et al.*, 1999).

Se tem verificada a capacidade de *Stachybotrys levispora* em produzir

agentes antifúngicos capazes de diminuir o crescimento micelial do agente causal do mofo-branco, *Sclerotinia sclerotiorum*, em leguminosas (RIBEIRO *et al.*, 2018). Filtrados desse fungo têm sido pouco testados contra fitonematoides, entretanto foi observado *in vitro* grande capacidade de supressão da eclosão de juvenis de *M. incognita*. Igualmente para filtrados do fungo *Phialomyces macrosporus*, que também apresentaram ação antagônica sobre J2 e ovos de *M. incognita* e *H. glycines* (dados não publicados).

O que se tem publicado em relação a *P. macrosporus* é sobre sua capacidade de reduzir o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos como *Colletotrichum gloeosporioides* e *Cercospora coffeicola*, por meio da síntese de compostos voláteis e antimicrobianos (SILVA BRANDÃO; SILVA ABREU; GERIS, 2019; LABORDE *et al.*, 2019; RODRÍGUEZ *et al.*, 2016)

Outra forma de utilização desses agentes é por meio da obtenção de seus filtrados quando cultivados em meios líquidos. Filtrados de *Periconia hispidula* e *S. levispora* demonstraram capacidade de promover resistência em plantas contra *Xanthomonas euvesicatoria*, causadora da mancha bacteriana do tomateiro (PEITL *et al.*, 2017). Alencar *et al.* (2020) evidenciaram que o filtrado de *P. hispidula* induziu o aumento da atividade das enzimas catalase, peroxidase e lipoxigenase em tomateiro, tendo essas substâncias potencial para sinalizar mecanismos primários de defesa da planta.

Dentre outros fungos, *Volutella minima* e *Stachybotrys globosa* foram testados *in vitro* pelo pareamento de culturas contra *Alternaria solani*, tendo *S. globosa* formado um halo de inibição ao patógeno indicando a produção de metabolitos, voláteis e não voláteis, com efeito fungistático (SOLINO *et al.*, 2017)

Uma vez constatada a capacidade de fungos sapróbios causarem efeito adverso à patógenos, a investigação de seu impacto sobre fitonematoides é uma possibilidade na busca constante por isolados que apresentem diferentes modos de ação sobre os estádios do ciclo de vida, e que possam ser a base de nematicidas biológicos com eficácia, visando a redução da população dos nematoides em condições de campo.

2.3.1 *Purpureocillium lilacinum* E *Pochonia chlamydosporia*

Uma espécie fúngica amplamente utilizada como princípio ativo de

produtos comerciais biológicos para controle de fitonematoides é *P. lilacinum*, fungo que além de apresentar atividade saprofítica é capaz de parasitar ovos e formas sedentárias de espécies dos gêneros *Meloidogyne*, *Heterodera* e *Rotylenchulus* (SILVA, 2015).

Além da atividade nematófaga, isolados de *P. lilacinum* também são conhecidos: pela sua atividade entomopatogênica contra diversas ordens de insetos como dípteros, lepidópteros, hemípteros (MEDEIROS, 2016; CASTILLO LOPEZ *et al.*, 2014); pela produção de metabólitos secundários como leucinostatinas, policetídeos, ergosteróis, paecilaminols, dentre outros, com potencial para uso agrícola (CHEN; HU, 2022); além de poderem induzir resistência e promoverem o crescimento vegetal (GINÉ; SORRIBAS, 2017; SARVEN; AMINUZZAMAN; HUQ, 2019).

Outro fungo que é encontrado em associação ao parasitismo de ovos e fêmeas de *Meloidogyne* e *Heterodera* é *Pochonia chlamydosporia*, também utilizado como agente de controle biológico (SUN *et al.*, 2006; SONG *et al.*, 2017). Além disso, essa espécie é capaz de colonizar o rizoplane de plantas cultivadas, estabelecer uma relação bem próxima às células da raiz e promover crescimento vegetal (DALLEMOLE-GIARETTA *et al.*, 2015; GHAREMANI *et al.*, 2019).

3 ARTIGO A

3.1 RESUMO

Entre os principais limitantes para manutenção do potencial produtivo das culturas agrícolas estão os problemas fitossanitários, dentre esses destacam-se os causados pelos fitonematoides. Pesquisas envolvendo métodos para o controle de nematoides têm sido intensificadas e o controle biológico integra as estratégias de manejo, buscando o desenvolvimento sustentável da agricultura. Nesse contexto, microrganismos como bactérias e fungos têm apresentado resultados relevantes, principalmente, por serem compatíveis com o manejo sustentável. Apesar da diversidade de organismos antagônicos, nem todos são vantajosos para serem usados como agentes de biocontrole. Os fungos nematófagos destacam-se entre os agentes com maior potencial, pois são capazes de colonizar e parasitar nematoides para sua própria nutrição, além de sua atividade tóxica pela síntese de metabolitos secundários. Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a antibiose *in vitro* de *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Stachybotrys levispora*, *Myrothecium* sp., *Phialomyces macrosporus*, *Periconia hispidula*, *Stachybotrys globosa* e *Volutella minima* sobre ovos de *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*. Alguns isolados de *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* apresentaram ação antagônica sobre ovos de *M. incognita* e *H. glycines*, sendo parte desses isolados antagônicos para ambos fitonematoides. Outro importante resultado, foi a primeira constatação da ação antagônica de *S. levispora*, *P. hispidula* e *S. globosa* sobre ovos de *H. glycines*.

Palavras-chave: Fungos parasita de ovos. Fungos sapróbios. Nematóide de cisto da soja. Nematóide das galhas radiculares.

3.2 ABSTRACT

Among the main limitations for maintaining the productive potential of agricultural crops are phytosanitary problems, among which those caused by phytonematodes stand out. Research involving methods for controlling nematodes has been intensified and biological control is part of management strategies, seeking the sustainable development of agriculture. In this context, microorganisms such as bacteria and fungi have shown relevant results, mainly because they are compatible with sustainable management. Despite the diversity of antagonistic organisms, not all of them are advantageous for use as biocontrol agents. Nematophagous fungi stand out among the agents with the greatest potential, as they are capable of colonizing and parasitizing nematodes for their own nutrition, in addition to their toxic activity through the synthesis of secondary metabolites. Thus, the objective of this work is to evaluate the *in vitro* antibiosis of *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Stachybotrys levispora*, *Myrothecium* sp., *Phialomyces macrosporus*, *Periconia hispidula*, *Stachybotrys globosa* and *Volutella minima* on *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* eggs. Some isolates of *P. lilacinum* and *P. chlamydosporia* showed antagonistic action on eggs of *M. incognita* and *H. glycines*, with some of these isolates being antagonistic to both phytonematodes. Another important result was the first observation of the antagonistic action of *S. levispora*, *P. hispidula* and *S. globosa* on *H. glycines* eggs

Keywords: Egg parasite fungi. Root-knot nematode. Saprobic fungi. Soybean cyst nematode.

3.3 INTRODUÇÃO

Os fitonematoides são parasitas de plantas que causam sérios danos às culturas em todo mundo (LI *et al.*, 2015). As perdas anuais são da ordem de 100 a 150 bilhões de dólares, sendo mais da metade dessas atribuídas ao gênero *Meloidogyne*, denominados como nematoides das galhas radiculares (LI *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2016).

As espécies *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* são consideradas as mais importantes para a cultura da soja no Brasil (DIAS *et al.*, 2010). O nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*), também, se destaca entre os patógenos que dificultam a obtenção de maiores rendimentos de grãos na cultura da soja (PENG *et al.*, 2016).

Embora estratégias de controle como rotação de culturas sejam recomendadas e cultivares resistentes estejam disponíveis para alguns fitonematoides, ainda apresentam adoção limitadas, sendo os nematicidas químicos mais procurado para minimizar perdas às produções agrícolas. Este cenário, portanto, denota a urgência em disponibilizar métodos de controle de namatoides que sejam eficientes, econômicos e ambientalmente sustentáveis (ZHAI *et al.*, 2018).

Atualmente o mercado dispõem de produtos de base biológica como isolados bacterianos, fúngicos, produtos mistos de espécies, derivados contendo seus metabolitos secundário e moléculas sintéticas com menor toxicidade do que até então se tinha disponível no mercado (LI *et al.*, 2015).

No intuito de servir de base para um novo produto comercial destinado ao manejo de fitonematoides, isolados de fungos nematófagos e produtores de metabolitos tóxicos deve ter seu potencial investigado, devido a variabilidade entre isolados e ao grande número de compostos produzidos.

Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar o antagonismo de isolados de *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Stachybotrys levispora*, *Myrothecium sp.*, *Phialomyces macrosporus*, *Periconia hispidula*, *Stachybotrys globosa* e *Volutella minima* sobre ovos de *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines* *in vitro*.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Raízes e substrato provenientes de banco de inóculo de fitonematoides foram utilizadas para a obtenção das estruturas dos patógenos utilizados nos experimentos deste trabalho. Dessa forma, raízes de soja colonizadas com *Meloidogyne incognita* foram submersas em solução de floxina b (TAYLOR; SASSER, 1978) pigmento utilizado para destaque e recolhimento das massas de ovos. Cistos de *Heterodera glycines* foram extraídos do substrato de banco de inoculo pelo método de flotação e peneiramento (MACHADO; SILVA, 2019) com posterior seleção e recolhimento sob lupa estereoscópica.

Os isolados fúngicos foram obtidos do banco de microrganismos dos laboratórios de Nematologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina, estando previamente conservados em solução salina, NaCl 0,85%, na forma de discos de meio de cultura com micélio (método de Castellani).

Na Tabela 1 são apresentados os tratamentos utilizados nos experimentos *in vitro* de antagonismo contra ovos de *M. incognita* (Experimento Mi) e *H. glycines* (Experimento Hg).

Tabela 1 – Espécies e isolados fúngicos utilizados nos experimentos, provenientes do banco de microrganismos dos Laboratórios de Fitopatologia e Nematologia Agrícola da UEL

Identificação	Espécie
MYR	<i>Myrothecium sp.</i>
PEH	<i>Periconia hispidula</i>
PHM	<i>Phialomyces macrosporus</i>
STG	<i>Stachybotrys globosa</i>
STL	<i>Stachybotrys levispora</i>
VOM	<i>Volutella minima</i>
Pae03	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae13	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae18	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae20	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae24	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae28	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1101	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1102	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1104	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1105	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1109	<i>Purpureocillium lilacinum</i>

Pae1110	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1111	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1112	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1113	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1115	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1116	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Pae1118	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
PaeC	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
Poc1108	<i>Pochonia chlamydosporia</i>
Poc1109	<i>Pochonia chlamydosporia</i>
Poc1116	<i>Pochonia chlamydosporia</i>

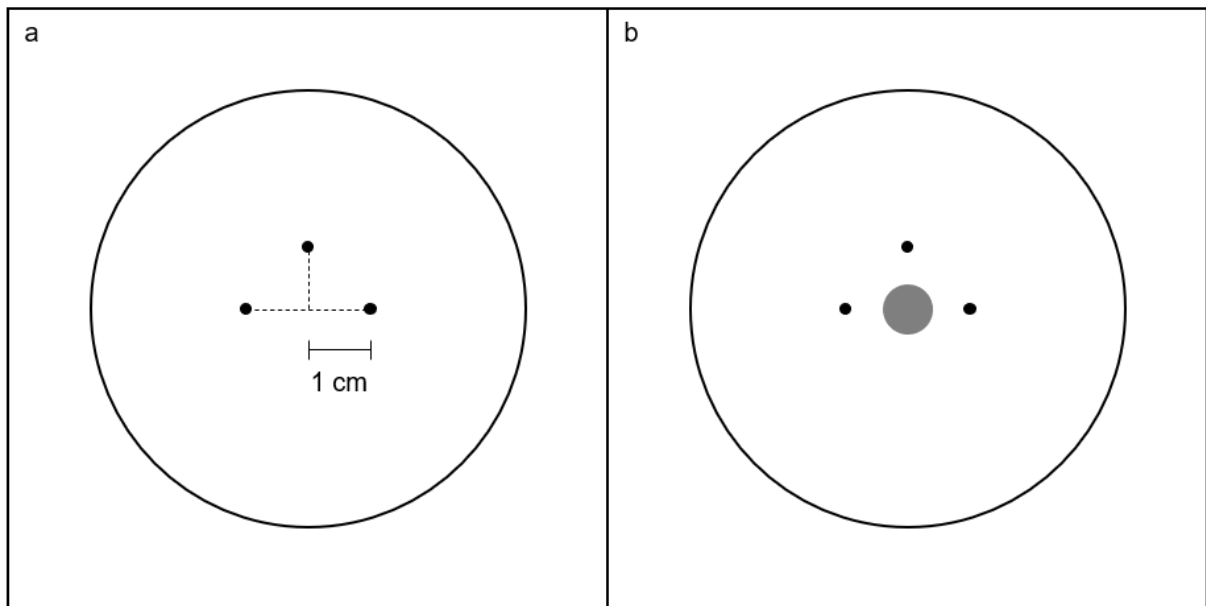
Para ativação dos isolados e obtenção de colônias os discos foram repicados para placas de Petri contendo meio Batata-Dextrose-Agar com tetraciclina 0,05 g L⁻¹ (BDA+antibiótico) que foram mantidas em câmara do tipo BOD a 26 °C com fotoperíodo de 12 h luz dia⁻¹ durante 15 dias.

Previamente os cistos de *H. glycines* e massas de ovos de *M. incognita* passaram por uma desinfecção superficial por submersão em solução álcool (75%), de hipoclorito (0,5%), por 30 segundos cada, e enxague duplo em água destilada autoclavada. O álcool tem a função de quebrar a tensão superficial líquida do material para favorecer maior contato da solução de hipoclorito, garantindo melhor ação desinfetante do processo.

Em placas de Petri contendo meio agar-água (1,5 %) com tetraciclina 0,05 g L⁻¹ foram dispostas três massas de ovos para o Experimento Mi e três cistos para o Experimento Hg, aproximadamente 1 cm do centro (Figura 1a). Posteriormente foi repicado das colônias ativas para o centro das placas um disco com fragmento de micélio de um isolado (8 mm de diâmetro), equidistante aos cistos ou massas de ovos (Figura 2b), como testemunha foi colocado um disco de BDA+antibiótico sem micélio.

Em seguida, as placas foram vedadas com filme plástico e mantidas em BOD 26 °C (fotoperíodo de 12 h luz dia⁻¹) para incubação por 10 dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com três repetições para o Experimento Mi e cinco para o Experimento Hg.

Figura 1 – Esquema da disposição dos cistos ou massas de ovos (pontos pretos) em relação ao disco com micélio fúngico (círculo cinza) na placa de Petri (circunferência preta)



Após 10 dias de incubação os cistos ou massas de ovos foram removidas das placas de Petri e transferidas para tubo de ensaio com água e mantidos a temperatura de 5 °C no escuro até a avaliação.

As massas de ovos ou cistos foram transferidas para uma lâmina de vidro com uma gota de lactofenol, e com uma lamínula sobre o material a massas de ovos foram dispersas e o cistos foram rompidos expondo os ovos e permitindo sua visualização em microscópico óptico. Todos os ovos avaliáveis, aqueles fora de sobreposições que impedia sua visualização individual, foram contabilizados, assim como os ovos alterados, de aspecto anormal. Com isso foi determinado a porcentagem de alteração para cada repetição.

Quando atendido os pressupostos de normalidade e homogeneidade dos dados foi feita a análise de variância e indicando diferença significativa as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância (CANTERI *et al.*, 2001.). Quando não atendido, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis com pós teste de ranqueamento ($\alpha = 5\%$).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado dos experimentos *in vitro* foram compilados na Tabela 2, com os valores médios das avaliações e seus agrupamentos pelos testes estatísticos.

Tabela 2 – Porcentagem de ovos alterados de fitonematoides após incubação com isolados fúngicos por 10 dias

Espécie	Identificação	Experimento Mi (<i>Meloidogyne incognita</i>)		Experimento Hg (<i>Heterodera glycines</i>)
		Rank	Ovos alterados (%)	Ovos alterados (%)
<i>Myrothecium sp.</i>	MYR	13	69 bcegh ¹	18,7 B ²
<i>Periconia hispidula</i>	PEH	25	23,33 jk	24,8 A
<i>Phialomyces macrosporus</i>	PHM	24	30,5 ik	26,6 A
<i>Stachybotrys globosa</i>	STG	23	41,89 hik	20,7 B
<i>Stachybotrys levispora</i>	STL			32,9 A
<i>Volutella minima</i>	VOM			16,3 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae03	22	54,42 gik	32,2 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae13	8	84,64 acef	18,9 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae18	9	78,9 acef	23,2 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae20	19	70,31 egij	20,4 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae24	1	94,09 a	29,0 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae28	5	88,94 ace	
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1101	27	19,6 k	34,5 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1102	21	54,11 gik	26,4 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1104	15	61,58 dei	27,2 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1105	16	70,43 ei	22,2 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1109	3	89,99 ac	18,6 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1110	2	90,85 ab	16,0 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1111	14	63,5 cei	27,4 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1112	17	69,11 ei	14,1 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1113	11	78,3 aceg	29,8 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1115	10	80,15 aceg	26,8 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1116	4	89,05 acd	25,7 A
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1118	7	86,99 ace	19,1 B
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	PaeC	20	58,8 fgij	29,8 A
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Poc1108	6	87,8 ace	31,9 A
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Poc1109	18	70,99 ei	21,2 B
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Poc1116	12	75,67 acegh	26,6 A
	Testemunha	26	19,05 jk	11,68 B

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem segundo o teste de ranqueamento pós Kruskal-Wallis com 5% de significancia (α).

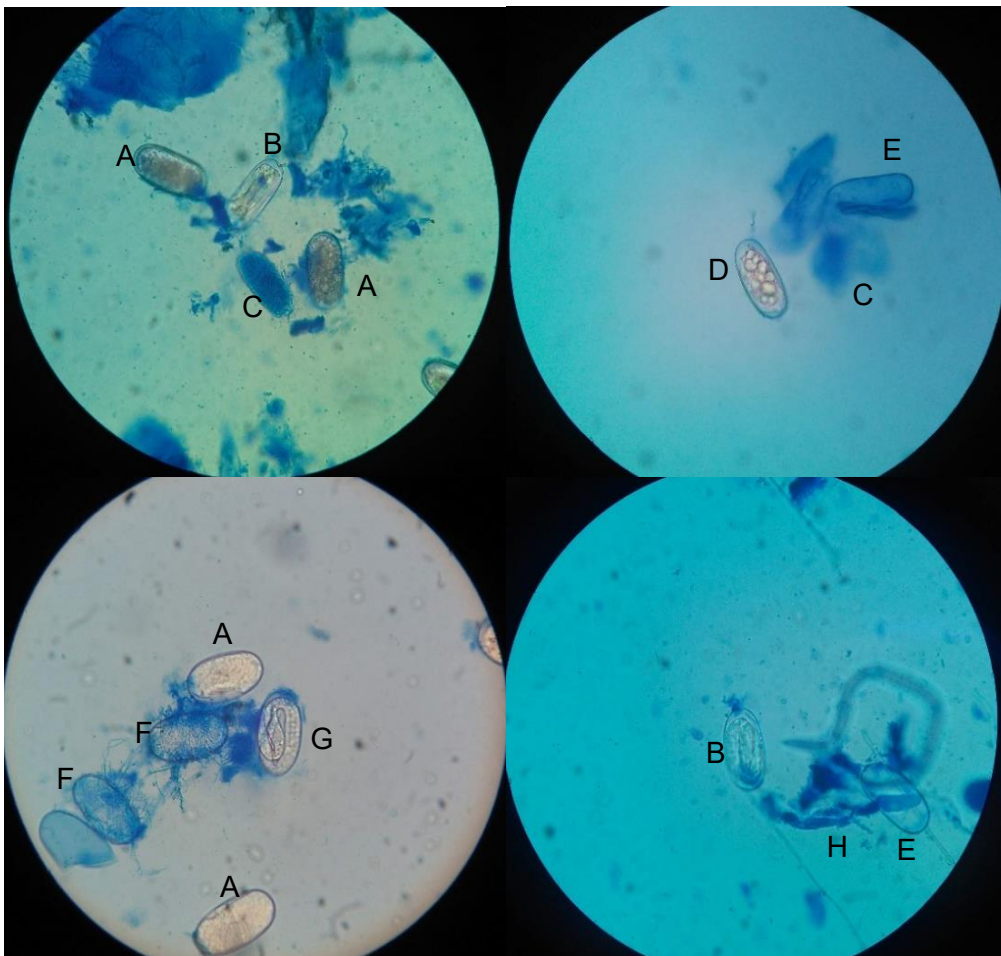
²Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem segundo o teste de Scott-Knott ($\alpha = 5\%$).

As alterações dos ovos foram consideradas como resultado de um

antagonismo amplo dos isolados, podendo ser pelo parasitismo de ovos, já constatados para as espécies *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, e/ou síntese de metabólitos secundários tóxicos. Outros testes devem ser realizados para identifica especificamente o modo de ação dos isolados que apresentaram antagonismo significativo aos nematoides.

Ovos e J2 considerados como íntegros não foram impregnados pelo corante lactofenol, entretanto quando mecanicamente rompidos seu interior e conteúdo colorem fortemente. Nas avaliações foram observadas algumas irregularidades na forma e conteúdo dos ovos, grânulos translúcidos e permeabilidade ao corante (Figura 2), ovos com casca aparentemente íntegra que coloriram parcialmente, sugerindo alteração da sua permeabilidade por ação dos isolados fúngicos.

Figura 2 – Aspectos de ovos de *Meloidogyne incognita* antagonizados por isolados fúngicos após incubação por 10 dias



A) ovo normal. B) ovo com juvenil alterado. C) conteúdo de ovo rompido. D) ovo com grânulos translúcidos. E) casca de ovo rompido. F) ovo com hifas fúngicas. G) ovo com juvenil normal. H) juvenil alterado colorido.

Apesar da observação de hifas fúngicas, aparentemente, sobre alguns dos ovos de nematoides isso não garante que estes estavam sendo parasitados, principalmente para os isolados de espécies que não se têm relatos deste comportamento. Pois na metodologia utilizada as massas de ovos e cistos foram desestruturados para avaliação, podendo a presença das hifas sobre os ovos ser apenas ocasional, ou estarem desempenhando ação saprofíticas sobre a matriz externa aos ovos.

Em ordem decrescente de rank, os isolados Pae24, Pae1110, Pae1109, Pae1116, Pae28, Poc1108, Pae1118, Pae13, Pae18, Pae1115, Pae1113 e Poc1116 resultaram de 94% a 74,7% de alteração de ovos de *M. incognita*, sendo estatisticamente iguais ao melhor tratamento (Tabela 2). E dentre esses os que estão presentes no grupo de maior alteração de ovos de *H. glycines* em ordem decrescente são Poc1108, Pae1113, Pae1115, Poc1116, Pae1116, Pae24 e Pae18 de 31,9% a 23,2% de ovos alterados.

É frequente relatos de grande porcentagem de parasitismo de ovos fitonematoide por *P. lilacinum* além de uma variação expressiva desse valor, dependendo do isolado das condições que é promovido a incubação do fungo. Giné e Sorribas (2017) relataram para o isolado PI251 $94.91 \pm 2.88\%$ de parasitismo sobre ovos de *M. incognita*, e nenhum parasitismo de J2, quando disco de micélio foi posto em meio ágar-água. Outro isolado de *P. lilacinum* obteve 79.8% de inibição da eclosão de *M. incognita*, além de promover morte de 97.6% J2 quando, quando aplicado via esporos e encubados em solução durante mesmo período (ISAAC; EL-DERINY; TAHA, 2021).

Rosa *et al.*, (2021) relataram que o tratamento composto por *P. lilacinum* e *Trichoderma harzianum* foi capaz de reduzir o número de *H. glycines* encontrados por grama de raiz de soja ao longo de ciclos do patógeno em casa de vegetação. Os fungos *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* são frequentemente associados a solos supressores de nematoides de cisto como *H. filipjevi* e *H. schachtii* (ORO *et al.*, 2021), essas evidências, junto os dados obtidos no presente trabalho, indicam a capacidade de alguns isolados desses fungos em parasitar *H. glycines* e reduzir significativamente sua população.

Além do parasitismo direto sobre ovos de *M. incognita* o fungo *P. chlamydosporia* é capaz de promover a resistência sistêmica da planta, dependendo da espécie, através da colonização endolítica das raízes e ativação das vias do ácido jasmônico e salicílico (GHAHREMANI *et al.*, 2019).

Como não é incomum a ocorrência simultânea de espécies de fitonematoides em áreas agrícolas podemos considerar essa capacidade de antagonizar satisfatoriamente os ovos de ambas as espécies, *M. incognita* e *H. glycines*, uma característica vantajosa para um agente de controle biológico desses parasitas.

Observou-se que a porcentagem de ovos alterados na testemunha do Experimento Mi foi maior que a testemunha do Experimento Hg, respectivamente 19% e 11,7%, a amplitude desse parâmetro entre os tratamentos foi menor no Experimento Hg, provavelmente devido a proteção física que a parede do cisto confere aos ovos, em contrapartida, a matriz gelatinosa das massas de ovos que confere uma proteção limitada à desidratação.

Os isolados de *S. levispora* (32,91 %), *S. globosa* (26,57 %) e *P. hispidula* (24,79 %) ocasionaram *in vitro* a alteração de ovos de *H. glycines*, significativamente maior a testemunha (11,68 %), teste até então não relatada na bibliografia para estas espécies. Isso amplia a gama de antagonismo contra fitopatógenos já descrita para esses fungos (SOLINO *et al.*, 2017; PEITL *et al.*, 2017).

3.6 CONCLUSÃO

Alguns isolados de *Purpureocillium lilacinum* e *Pochonia chlamydosporia* apresentaram em experimentos *in vitro* ação antagônica sobre ovos de *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*, sendo parte desses isolados antagônicos para ambos fitonematoides.

Pela primeira vez relatado, foi observado ação antagônica de *Stachybotrys levispora*, *Periconia hispidula* e *Stachybotrys globosa* sobre ovos de *Heterodera glycines*.

4 ARTIGO B

4.1 RESUMO

Para manejo dos fitonematoides, patógenos diversos e encontrado em muitas áreas de cultivo, se deve utilizar múltiplas ferramentas de forma integrada, englobando práticas culturais, cultivares resistentes ou com baixo fator de multiplicação e nematicidas químicos e biológicos. O desenvolvimento de nematicidas biológicos partes da investigação da capacidade de microrganismos isoláveis e multiplicáveis no controle de nematoides em algum estágio de seu ciclo de vida. Para fungos frequentemente é observado uma relação de parasitismo, onde as hifas são adaptadas para captura de formas moveis ou capazes de digerir cutícula e conteúdo de ovos. Durante incubação em meio de cultivo de foi observado crescimento de micélio a partir dos cistos de *H. glycines*. Sendo indícios de microrganismos sobreviventes ao processo de desinfecção superficial e previamente associados à essa estrutura dos patógeno. Nesse contexto os objetivos aqui são os objetivos foram (i) registrar as características de fungos isolados a partir de cistos de *H. glycines*, e (ii) verificar *in vitro* a capacidade de antibiose ou parasitismo destes isolados sobre ovos de *M. incognita*. Para tanto, foram selecionadas cinco placas com desenvolvimento de micélio representando a diversidade morfológica de fungos isolados, na sequência estes foram novamente repicados e incubados, sendo avaliados aos quatro e décimo dias o aspecto das colônias, desenvolvimento de hifas, presença de esporangióforos e esporos. Com base nessas características morfológicas três isolados foram classificados previamente como pertencentes aos gêneros *Mortierella*, *Fusarium* e *Waitea*. Nos testes *in vitro* contra massas de ovos *Meloidogyne incognita*, o isolado tido como sendo *Waitea* apresentou resultados similares aos isolados de *P. lilacinum* com as maiores porcentagens de alteração dos ovos. **Palavras-chave:** Fungos parasita de ovos. Fungos sapróbios. Nematóide de cisto da soja. Nematóide das galhas radiculares.

Palavras-chave: Fungos parasita de ovos. Fungos sapróbios. Nematóide de cisto da soja. Nematóide das galhas radiculares.

4.2 ABSTRACT

To manage phytonematodes, diverse pathogens found in many cultivation areas, multiple tools must be used in an integrated manner, encompassing crop practices, resistant cultivars or cultivars with a low multiplication factor, and chemical and biological nematicides. The development of biological nematicides begins with the investigation of the ability of isolatable and multiplyable microorganisms to control nematodes at some stage of their life cycle. For fungi, a parasitism relationship is often observed, where the hyphae are adapted to capture mobile forms or capable of digesting the cuticle and egg contents. During incubation in culture medium, mycelium growth was observed from *H. glycines* cysts. These are signs of microorganisms surviving the superficial disinfection process and previously associated with this structure of the pathogen. In this context, the objectives here were (i) to record the characteristics of fungi isolated from *H. glycines* cysts, and (ii) to verify in vitro the antibiosis or parasitism capacity of these isolates on *M. incognita* eggs. To this end, five plates with mycelium development representing the morphological diversity of isolated fungi were selected. These were then picked again and incubated, with the appearance of the colonies, hyphae development, presence of sporangiophores and spores being evaluated on the fourth and tenth days. Based on these morphological characteristics, three isolates were previously classified as belonging to the genera *Mortierella*, *Fusarium* and *Waitea*. *In vitro* tests against *Meloidogyne incognita* egg masses, the isolate considered to be *Waitea* presented similar results to the *P. lilacinum* isolates with the highest percentages of egg changes.

Keywords: Egg parasite fungi. Root-knot nematode. Saprobic fungi. Soybean cyst nematode.

4.3 INTRODUÇÃO

O ambiente rizosférico, pela presença de raízes ativas e seus exsudatos, estimula a ocorrência das relações ecológica como predação, parasitismo e simbiose sobre a planta e entre os organismos associados à essas raízes.

Além dos microrganismos patogênicos as plantas são parasitadas por fitonematoides, membros da microfauna. São encontrados em sua diversidade em todos os ambientes e capazes de ocasionar perdas relevantes aos cultivos (LI *et al.*, 2015). Foi estimado que 100 a 150 bilhões de dólares são perdidos anualmente devido o ataque de fitonematoides, principalmente do gênero *Meloidogyne*, o nematoide das galhas radiculares (LI *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2016).

Da mesma forma que as plantas, os próprios fitonematoides estão sujeitos a ataques de outros organismos, sendo os mais relevantes para uso como ferramentas de manejo as bactérias e fungos. Dentro de um mesmo gênero fúngico é possível observar espécies que quando associados as raízes podem atuar como simbiontes micorrízicos e quanto associados a nematoides ou suas estruturas, atuam com decompositores oportunistas ou parasitas nematófagos.

As espécies *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* são os principais fitonematoides da cultura da soja e dificultam a obtenção de maiores rendimentos de grãos da principal commodities agrícola do Brasil (DIAS *et al.*, 2010). Também relevante por ser um patógeno exógeno, o nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, tem controle dificultado por ser capaz de permanecer no solo por longos períodos através do cisto, uma estrutura de sobrevivência (PENG *et al.*, 2016).

Nesse contexto os objetivos são (i) registrar as características de fungos isolados a partir de cistos de *H. glycines*, e (ii) verificar *in vitro* a capacidade antagônica destes isolados fúngicos sobre ovos de *M. incognita*.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Foi observado crescimento de micélio a partir dos cistos de *H. glycines* preparados como Testemunha no Experimento Hg do Artigo A. Sendo indícios de microrganismos sobreviventes ao processo de desinfecção superficial dos cistos e previamente associados à essa estrutura dos patógeno, visto que na Testemunha não foi inoculado nenhum isolados fúngico.

Sob microscópio estereoscópico foi evidenciado distinção morfológica dos micélios quanto densidade e extensão de crescimento, a partir disso, pontos de

isolamento foram escolhidos pela presença de hifas únicas, e em câmara de fluxo laminar foram repicados para placas de Petri com meio Batata-Dextrose-Agar com tetraciclina $0,05 \text{ g L}^{-1}$ (BDA+antibiótico) e mantidas em câmara BOD a $26 \text{ }^\circ\text{C}$ (fotoperíodo de $12 \text{ h luz dia}^{-1}$) para incubação inicial possibilitando observação das características morfológicas de suas colônias.

Da incubação inicial foram selecionadas cinco placas com micélio como representantes da diversidade morfológica de fungos isolados de cistos de *H. glycines*, nomeados de “Isolado 1” a “Isolado 5”. Estes micélios foram novamente repicados para BDA+antibiótico e incubados em BOD por 10 dias, sendo registrado ao quarto e decimo dia o aspecto da colônia e as estruturas observadas em microscópio.

Esses cinco isolados obtidos de cistos de *H. glycines*, foram utilizados como tratamentos em um experimento *in vitro* de antagonismo de sobre ovos de *M. incognita*, junto de outros isolados fungicos (Experimento Mi2), seguindo a metodologia descrita no Artigo A para a mesma espécie de nematoide, diferindo por ter cinco repetições.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Características Dos Isolados Fúngicos

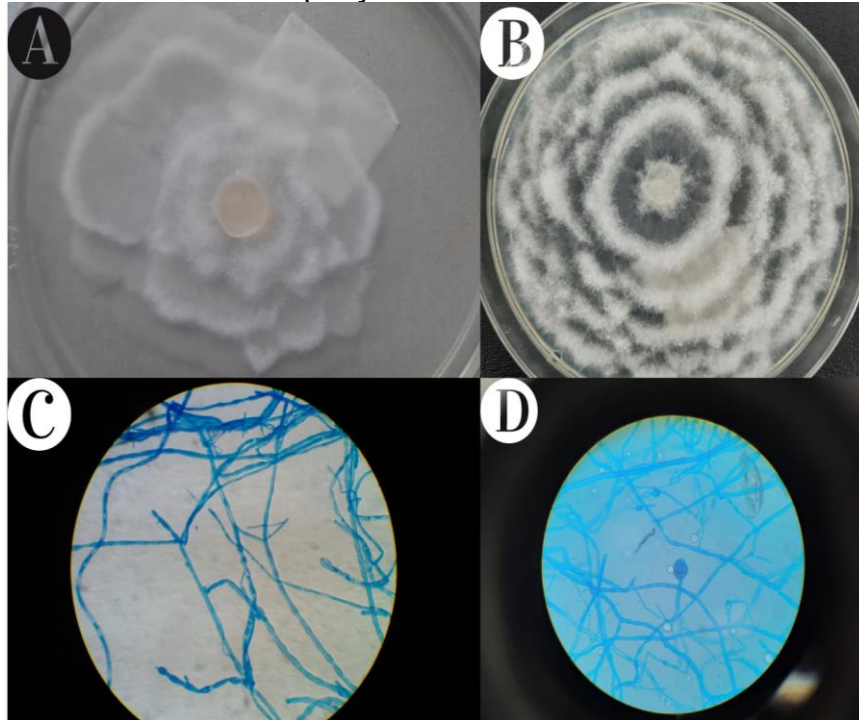
Devido ao aspecto da colônia com padrão típico de roseta (OZIMEK; HANAKA, 2021) e a produção de clamidósporos (Figura 3), o Isolado1 pode pertencer ao gênero *Mortierella* (MUFTAH ELTARIKI; TIWARI; ALHOOT, 2021). Induzir a esporulação pode servir para obtenção de mais características para verificar essa hipótese.

Fungos do gênero *Mortierella* são considerados saprófitos tendo alguns representantes com atividade parasítica sobre nematoides. Já foram isolados a partir de: estruturas do nematoide de cisto da soja e dos cereais, respectivamente, *Heterodera glycines* e *Heterodera avenae* (CHEN; CHEN, 2003; Hu *et al.*, 2020); a partir da matriz gelatinosa e ovos eclodidos de *Meloidogyne* (DILEGGE; MANTER; VIVANCO, 2019); e da superfície de raízes podendo apresentar crescimento endofítico e atuar como promotor de crescimento vegetal (OZIMEK; HANAKA, 2021; AL-SHAMMARI, 2013; DILEGGE; MANTER; VIVANCO, 2019).

Segundo o método proposto por DiLegge, Manter e Vivanco (2019)

Mortierella globalpina pode ser considerado nematófago generalista pois foi capaz de parasitar *in vitro* juvenis adultos e ovos de *Caenorhabditis elegans*, bacteriófago, e *M. chitwoodi*, fitonematoide.

Figura 3 – Isolado 1: A) aspecto da colônia com 4 dias; B) aspecto da colônia com 10 dias; C) hifa com 4 dias sob ampliação de 400 vezes; D) clamidósporo terminal observado ao décimo dia sob ampliação de 400 vezes



O Isolado 2 apresentou colônia de coloração rosada nas regiões novas e esverdeada nas mais velha, onde se encontra maior parte dos esporos. Foi observada a presença de hifas septadas, conidióforos ramificados e conídios ovais (Figura 4).

Foi observado para o Isolado 3 conidióforos em monofiálides dispostos ao longo de uma hifa principal e a partir dela várias microconídios no quarto dia e alguns macroconídios fusiformes no décimo dia (Figura 5), similar a fungos do gênero *Fusarium* (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

O cultivo contínuo de soja suscetível pode promover o aumento de seus patógenos no solo como nematoide de cisto, fungos possivelmente patogênicos como *Fusarium*, e até fungos benéficos como *Mortierella*, provavelmente devido sua capacidade de decompor aleloquímicos sintetizados pela planta nesta situação de intensa pressão patogênica, e quando estendido a um longo período pode promover

a criação de solos supressores dos fitonematoides da cultura (Liu *et al.*, 2019).

Em solos supressores de finonematoides foi detectado *Mortierella* dentre outros gêneros de fungo como *Fusarium*, sendo este último um oportunista no processo de degradação das estruturas dos nematoide devido sua ampla distribuição e atuação como decompositor nos solos (QIU *et al.*, 2020; RASHIDIFARD *et al.*, 2022; ROCHA; BOND; FAKHOURY, 2022; TOPALOVIĆ; HUSSAIN; HEUER, 2020).

Entretanto efeito similar pode ser obtido a partir de manejos que não atuem em detrimento da sanidade do solo para cultivo, a exemplo da fertilização orgânica com estrume de frango, que foi capaz de aumentar a diversidade de fungos rizadosfericos, como *Mortierella*, tendo correlação negativa com taxa de reprodução de cistos de *Heterodera avenae*, o nematoide de cistos dos cereais (QIU *et al.*, 2020).

Não foi encontrado a estrutura do conidióforo do Isolado 4 apesar de observado uma grande concentração de conídios levemente alongados (Figura 6). Podendo a estrutura dos conidióforos ser bem diminuta dificultando sua distinção dentre as hifas. Quando visto a olho nu ou até mesmo na lupa este isolado apresentava certa umidade em sua estrutura.

Figura 4 – Isolado 2: A) aspecto da colônia com 4 dias; B) aspecto da colônia com 10 dias; C) conidióforo e conídios em ampliação de 100 vezes; D) ampliação do conidióforo com esporos

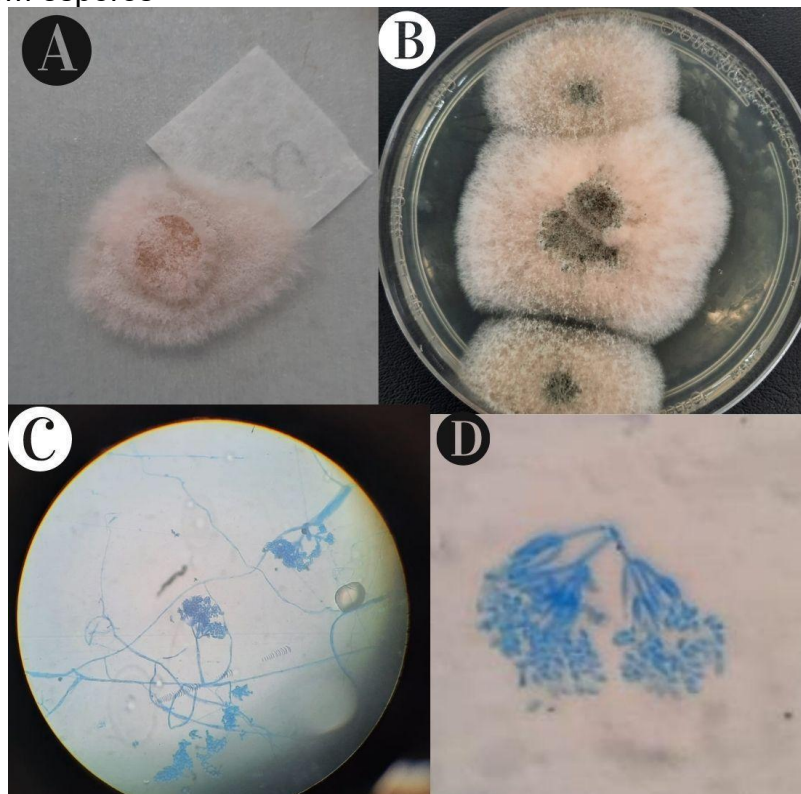


Figura 5 – Isolado 3: A) aspecto da colônia com 4 dias; B) aspecto da colônia com 10 dias; C) hifa com conidióforos na ampliação de 100 vezes; D) conídios com 4 dias visto com ampliação de 400 vezes; E) conídios fusiformes com 10 dias visto com ampliação de 400 vezes

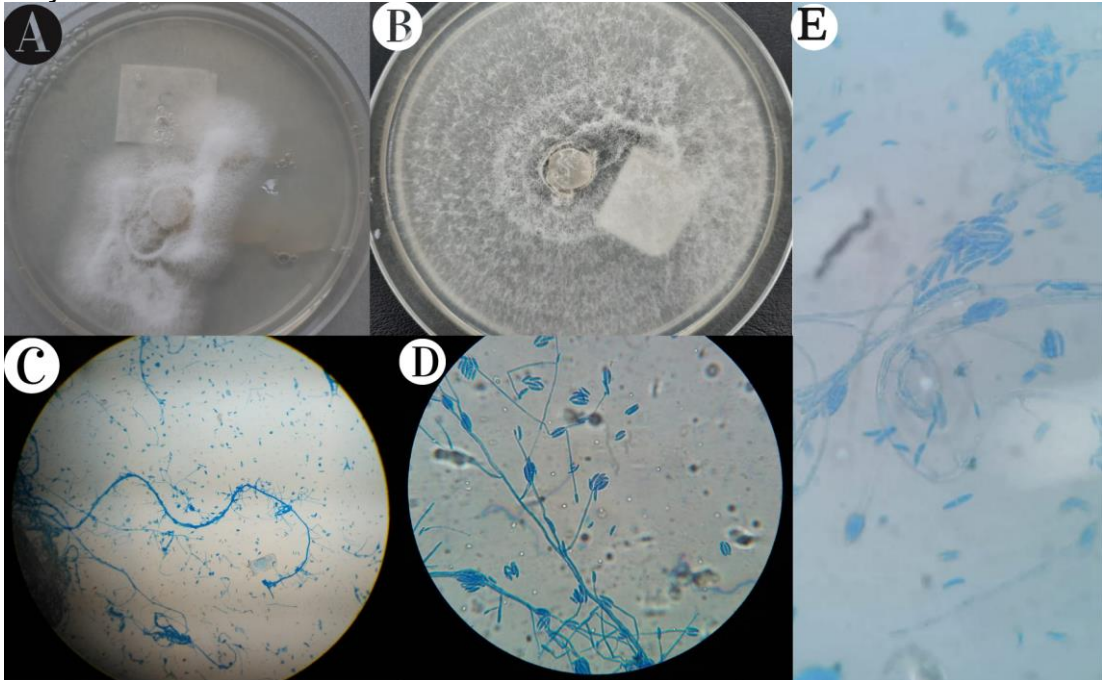
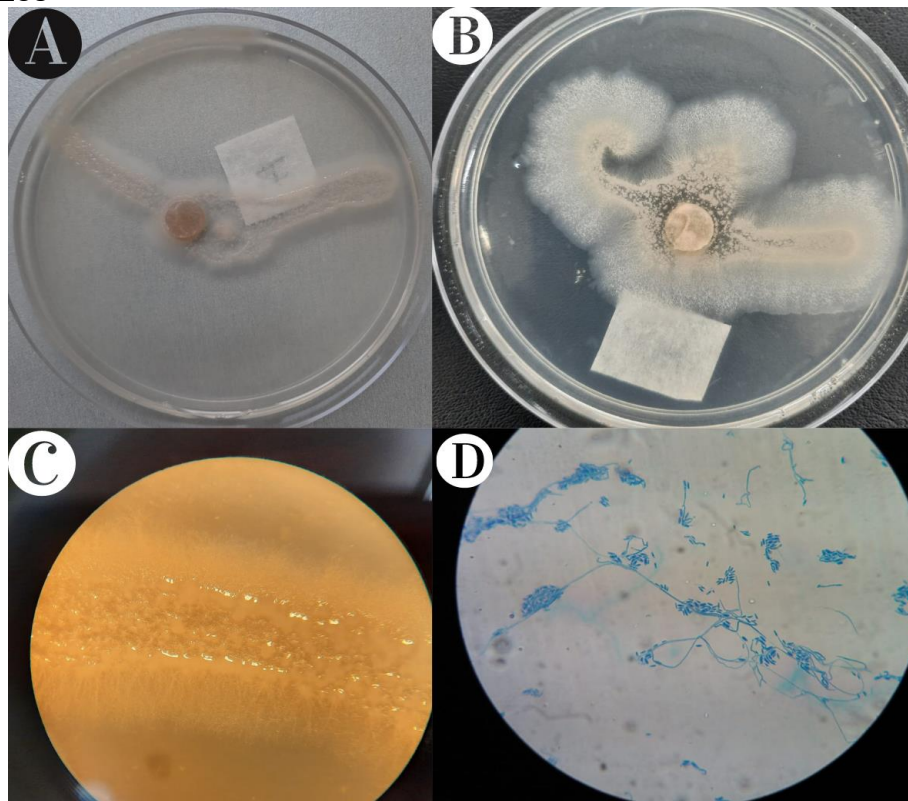


Figura 6 – Isolado 4: A) aspecto da colônia com 4 dias; B) aspecto da colônia com 10 dias; C) aspecto úmido do fungo visto sob lupa; D) conídios vistos com ampliação de 400 vezes



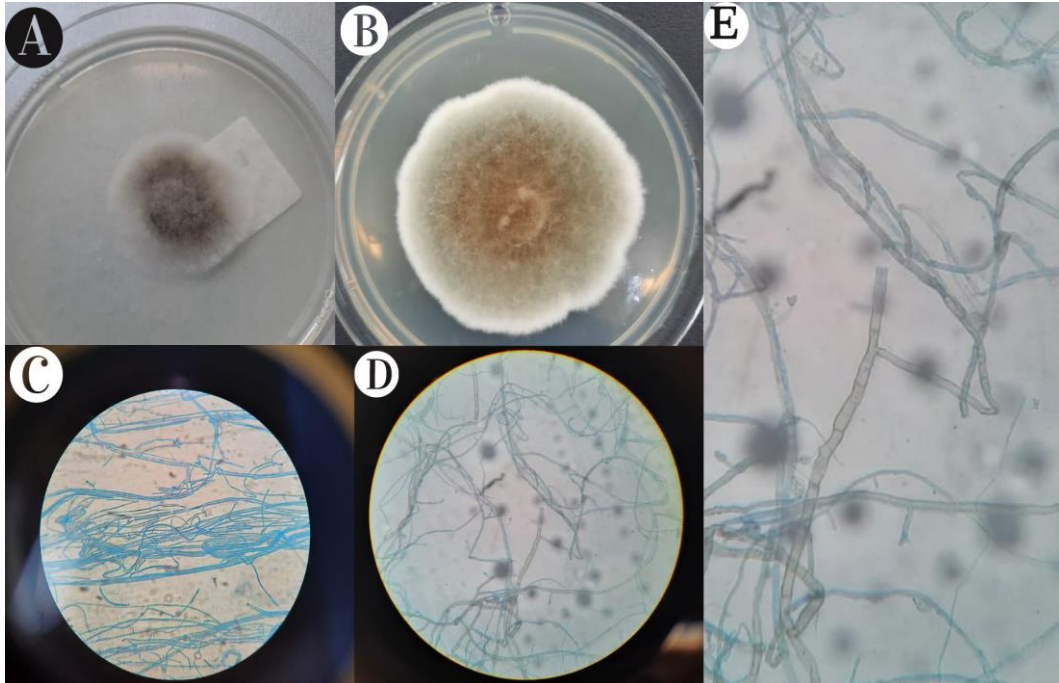
Com grande volume de hifas septadas o Isolado 5 não apresentou produção de esporos. Em algumas de suas hifas menos hialinas foi observado um ângulo de 90° de suas ramificações (Figura 7), essa característica se assemelha a fungos do gênero *Waitea* sp. (GOULART *et al.*, 2011).

Quando observado *in vivo* *Waitea* sp. pode apresentar um efeito antagônico sobre *Meloidogyne* por competição de sítio de infecção. O fungo, por ser um patógeno necrotrofico, destrói as células nutridoras necessárias para o nematoide, mas não de modo pontual, e sim degradando todo o tecido parasitado da raiz (AL-HAZMI; AL-NADARY, 2015). Desta forma a associação comum destes organismos se dá pelo favorecimento da severidade do fungo sobre a planta quando ocorrem simultaneamente pois a entrada e caminharmento dos nematoide endoparasitas dentro da raiz criam entradas para o fungo.

Apesar da não observação de estruturas reprodutivas do fungo neste trabalho, uma hipótese a ser investigada pertencimento do isolado 5 ao gênero *Waitea*, um dos teleomorfos de *Rhizoctonia*. Espécies desse gênero conseguem se associar a raízes de plantas, como *W. circinata* que atua endofiticamente como micorriza em orquídeas (CARVALHO *et al.*, 2022) ou até mesmo patogenicamente em outras culturas (AYDIN *et al.*, 2013; MARTINS *et al.* 2022).

Tem sido observado antagonismo de *Waitea* sobre patógenos fúngicos (CARVALHO *et al.*, 2022). E sobre fitonematoides testes *in vitro* e *in vivo* com *W. circinata* demonstraram seu potencial de controle contra *M. javanica* em plantas de tomate (MENDES, 2018).

Figura 7 – A) aspecto da colônia com 4 dias; B) aspecto da colônia com 10 dias; C) hifas no quarto dia vistas com ampliação de 400 vezes; D) hifa no decimo dia com ramificação em ângulo de 90° graus sob ampliação de 400 vezes; E) imagem aproximada da hifa com ângulo de 90° graus



4.5.2 Antagonismo Sobre Ovos De *M. incognita*

A Tabela 3 contém os resultados obtidos no experimento in vitro do antagonismo de fúngicos, incluso os isolados obtidos de cistos de *H. glycines*, sobre ovos de *M. incognita*.

Tabela 3 – Porcentagem de ovos alterados de *M. incognita* após incubação com isolados fúngicos por 10 dias.

Espécie	Identificação	Ovos alterados (%)
<i>Mortierella</i> sp.*	Isolado 1	14,7 c ¹
-	Isolado 2	18,5 c
<i>Fusarium</i> sp.*	Isolado 3	22,0 c
-	Isolado 4	14,5 c
<i>Waitea</i> sp.*	Isolado 5	42,4 a
<i>Myrothecium</i> sp*.	MYR	17,4 c
<i>Periconia hispidula</i>	PEH	20,3 c
<i>Phialomyces macrosporus</i>	PHM	17,7 c
<i>Stachybotrys globosa</i>	STG	29,0 c
<i>Stachybotrys levispora</i>	STL	24,6 c
<i>Volutella minima</i>	Vom	28,1 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae03	26,9 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae13	28,4 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae18	16,5 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae20	32,6 b
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae24	20,0 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1101	52,8 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1102	21,1 c

<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1104	20,8 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1105	19,5 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1109	22,2 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1110	25,0 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1111	36,2 b
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1112	49,1 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1113	31,5 b
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1115	19,1 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1116	36,2 b
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Pae1118	28,2 c
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	PaeC	23,5 c
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Poc1108	22,2 c
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Poc1109	31,8 b
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Poc1116	26,1 c
	Testemunha	19,3 c

*Suspeita da espécie baseada em características morfológicas de colônia, hifas, esporangióforo e esporos.

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem segundo o teste de Scott-Knott ($\alpha = 5\%$).

Poucos tratamentos diferiram significativamente da testemunha quanto a porcentagem de ovos alterados de *M. incognita*, valor que representa a capacidade antagonista dos fungos utilizados sobre essa estrutura do nematoide.

Junto de dois isolados de *P. lilacinum* (Pae1101 e Pae1112) o Isolado 5, possível *Waitea* sp., resultaram nas maiores porcentagens de ovos alterados, respectivamente, 53, 49 e 42 %. Ainda acima da Testemunha, quatro isolados de *P. lilacinum* e um de *P. chlamydosporia* obtiveram de 36 a 31 % de alteração de ovos.

A capacidade de controle de fitonematoides por isolados de *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* já é conhecida e utilizada no manejo de nematoides sedentários principalmente, (GHAHREMANI *et al.*, 2019; ORO *et al.*, 2021). Entretanto as investigações continuam para obtenção de isolados que melhor se adaptam as diversas condições edafoclimáticas e culturas onde se deseja aplicá-los.

A efetividade do parasitismo de um isolado fúngico sobre ovos de nematoides pode ser negativamente influenciada pela presença previa de outra espécie fúngica, mesmo que essa outra colonize apenas superficialmente e não resulte em uma mortalidade significativa dos ovos. A exemplo do observado por Chen, S. e Chen F. (2003) onde *Mortierella* sp. obtidos de cistos de *H. glycines*, e reinoculado em outros cistos da mesma espécie, influenciou negativamente o parasitismo por *P. chlamydosporia* (sin. *Verticillium chlamydosporium*).

Cistos ou massas de ovos de nematoide obtidos de bancos dos

inoculo convencionalmente utilizados, mesmo quando puros em relação ao fitonematoide mantido, não são isentos de microrganismos, portanto testes de eficiência de isolados devem sejam associados a uma triagem dos microrganismos cultiváveis presentes e se esses são capazes de interferir significativamente nos isolados de interesse para o controle de nematoides.

Outro fator que influencia na capacidade de uma espécie fúngica em parasitar os ovos é o nível de desenvolvimento embrionário e para as espécies que produzem cistos o nível de maturidade dessa estrutura. Como o observado para *Heterodera avenae*, o nematoide de cistos dos cereais, onde o fungo *Mortierella alpina* foi mais abundante colonizando ovos de fêmeas, contendo ovos em estágios embrionários mais iniciais, enquanto *Fusarium* spp. foi predominante em cistos maduros, portanto, com embriões dormentes mais desenvolvidos (Hu *et al.*, 2020).

Portanto para uma observação inicial mais detalhada da capacidade de parasitismo de um isolado fúngico sobre ovos de fitonematoide a idade das estruturas do patógeno que contém os ovos devem ser padronizadas. E em um segundo momento, os fungos serem testados em condição mais próximas ao observado a campo, com ovos e cistos em diferentes estágios de desenvolvimento.

4.6 CONCLUSÃO

(i) Com base em características morfológicas de aspecto de colônia, hifas, eventuais estruturas reprodutivas e esporos foi distinguido cinco isolados fúngicos obtidos a partir de cistos de *Heterodera glycines*, três destes inicialmente propostos como sendo pertencentes aos gêneros *Mortierella*, *Fusarium* e *Rhizoctonia*.

(ii) Dentre os isolados fúngicos obtidos a partir de cistos de *Heterodera glycines* o proposto como pertencente ao gênero *Waitea* se assemelhou a alguns isolados de *Purpureocillium lilacinum* por causar as maiores porcentagens de ovos alterados nos testes in vitro contra massas de ovos *Meloidogyne incognita*.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Alguns isolados de *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* apresentaram ação antagônica sobre ovos de e, sendo parte desses isolados antagônicos para ambos fitonematoides. Pela primeira vez relatado, foi observado ação antagônica de *S. levispora*, *P. hispidula* e *S. globosa* sobre ovos de *H. glycines*.

Com base em características morfológicas três isolados fungicos obtidos de cistos de *H. glycines* foram propostos aqui como pertencentes aos gêneros *Mortierella*, *Fusarium* e *Waitea*. Nos testes *in vitro* contra massas de ovos *Meloidogyne incognita* o tido como *Waitea* se assemelhou a alguns isolados de *Purpureocillium lilacinum* quanto sua capacidade de ocasionar as maiores porcentagens de alteração de ovos de *M. incognita*.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, Marianna Santos Rodrigues; SOLINO, Antônio Jussê da Silva; OLIVEIRA, Juliana Santos Batista; PASCHOLATI, Sérgio Florentino; SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas. Induction of defense mechanisms in tomato plants by saprobic fungi filtrates against early blight disease. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 3, p. 671-678, jul./set. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n310rc>.
- AL-HAZMI, A. S.; AL-NADARY, S. N. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani* on green beans. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 5, p. 570-574, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.008>
- AL-SHAMMARI, Turki A. et al. The use of *Trichoderma longibrachiatum* and *Mortierella alpina* against root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 7, p. 199-207, 2013. Disponível em: <https://microbiologyjournal.org/the-use-of-trichoderma-longibrachiatum-and-mortierella-alpina-against-root-knot-nematode-meloidogyne-javanica-on-tomato/> . Acesso em: 13 jun. 2023.
- AYDIN, E. B. et al. rDNA-ITS diversity of *Waitea circinata* var. *zeae* (anamorph: *Rhizoctonia zeae*). *Journal of Plant Pathology*, p. 587-595, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/274954809_rDNA-ITS_DIVERSITY_OF_WAITEA_CIRCINATA_VAR_ZEAE_ANAMORPH_RHIZOCTONIA_ZEAE. Acesso em: 13 jun.23
- BELLÉ, Cristiano; KULCZYNSKI, Stela Maris; KASPARY, Tiago Edu; KUHN, Paulo Roberto. Plantas daninhas como hospedeiras alternativas para *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, Florida, v. 47, n. 1, out. 2017. Disponível em: <https://journals.flvc.org/nematropica/article/view/105055>. Acesso em: 12 fev. 2022.
- BRASS, Fábio Emmanuel Braz; VERONEZZE, Nerval Cardelli; PACHECO, Eliton; BOSQUÊ, Gisleine Galvão. Aspectos biológicos do *Meloidogyne* spp. relevantes à cultura do café. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, n. 14, dez. 2008. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/XvmYrws2L0Xn43y_2013-5-10-12-12-9.pdf. Acesso em: 12 fev. 2022.
- BUSTOS, Nadya Lorena Cardona; PAVAS, Harold; FERNÁNDEZ, Erika Pamela. Efecto del filtrado crudo de *Purpureocillium* sp. (Cepa UdeA0106), sobre la eclosión de huevos y movilidad de juveniles de *Meloidogyne incognita-javanica*. **Revista colombiana de biotecnología**, Bogotá, v. 16, n. 2, jul/diz. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.47241>.
- CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

CARNEIRO, Regina M. D. G. CARVALHO, F. L. C.; KULCZYNSKI, S. M. Seleção de Plantas para Controle de *Mesocriconema xenoplax* e *Meloidogyne* spp. Através de Rotação de Culturas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.22, n.2, p. 41-48 dez. 1998. Disponível em: https://nematologia.com.br/files/revnb/22_2.pdf. Acesso em: 12 fev. 2022.

CARVALHO, Jacqueline *et al.* Characterization of the antagonism of the mycorrhizal fungus *Waitea circinata* against *Magnaporthe oryzae*, *Cochliobolus miyabeanus*, *Monographella albescens* and *Sarocladium oryzae* rice pathogens. **Colloquium Agrariae**. 2022. p. 1-14. DOI: 10.5747/ca.2022.v18.n2.a483

CASTILLO LOPEZ, Diana; ZHU-SALZMAN, Keyan; EK-RAMOS, Maria Julissa; SWORD, Gregory A. The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (formerly *Paecilomyces lilacinus*) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 8, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103891>.

CASTRO, J. M. da C.; MOREIRA, W. A. Nematoides. In: LIMA, M. F. MOREIRA, F. R. B. Eds.), **Uva de mesa: fitossanidade**. 2. ed. Brasília, Embrapa, 2012, p. 59-70.

CHEN, S. Y.; CHEN, F. J. Fungal parasitism of Heterodera glycines eggs as influenced by egg age and pre-colonization of cysts by other fungi. **Journal of Nematology**, v. 35, n. 3, p. 271, 2003.

CHEN, Wei; HU, Qiongbo. Secondary Metabolites of *Purpureocillium lilacinum*. **Molecules**, v. 27, n. 1, p. 18, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27010018>.

DALLEMOLE-GIARETTA, Rosangela; FREITAS, Leandro Grassi de; LOPES, Everaldo Antônio; SILVA, Marliane de Cássia Soares da; MEGUMI, Maria Catarina Kasuya; FERRAZ, Silamar. *Pochonia chlamydosporia* promotes the growth of tomato and lettuce plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 37, n. 4, p. 417-423, dez. 2015. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v37i4.25042>.

DE SOUZA, Victor Hugo Moura; ROMA-ALMEIDA, Rafaela Carolina Constantino; MELO, Thiago Anchieta de; REZENDE, Dalilla Carvalho; INOMOTO, Mário Massayuki; PASCHOLATI, Sérgio Florentino. Fitonematoides: Controle biológico e indução de resistência. **Revisão Anual de Patologia de Plantas. Sociedade Brasileira de Fitopatologia**: Brasília, v. 23, p. 242-292, 2015. Disponível em: <http://nematologia.com.br/files/rapp/rapp27.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2022.

DIAS, Waldir P.; SILVA, João F.V.; CARNEIRO, Geraldo E.S.; GARCIA, Antônio; ARIAS, Carlos A.A. Nematóide de Cisto da Soja: Biologia e Manejo Pelo Uso da Resistência Genética. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, n.1, p. 1-16, mar. 2009. Disponível em: https://nematologia.com.br/files/revnb/33_1.pdf. Acesso em: 13 fev. 2022.

DIAS, Waldir Pereira; GARCIA, Antônio; SILVA, João Flávio Veloso; CARNEIRO, Geraldo E. de Souza. **Nematóides em Soja: Identificação e Controle**. Londrina: Embrapa soja, 2010. Circular Técnica, 76. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPISO-2010/30766/1/CT76-eletronica.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2022.

DIAS-ARIEIRA, Cláudia Regina; FURLANETTO, Cleber; SANTANA, Simone de Melo; BARIZÃO, Davi Antonio Oliveira; RIBEIRO, Regina Cássia Ferreira; FORMENTINI, Heloísa Maria. Fitonematoides associados a frutíferas na região noroeste do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1064-1071, dez. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000119>.

DILEGGE, Michael J.; MANTER, Daniel K.; VIVANCO, Jorge M. A novel approach to determine generalist nematophagous microbes reveals *Mortierella globalpina* as a new biocontrol agent against *Meloidogyne* spp. nematodes. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44010-y>

FERRAZ, Silamar; FREITAS, Leandro Grassi de; LOPES, Everaldo Antônio; DIAS-ARIEIRA, Cláudia Regina. Controle biológico. *In*: FERRAZ *et al.* **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: Editora UFV, 2010. p. 139-169.

GHAHREMANI, Zahra; ESCUDERO, Nuria; SAUS, Ester; GABALDÓN, Toni; SORRIBAS, F. Javier. *Pochonia chlamydosporia* Induces Plant-Dependent Systemic Resistance to *Meloidogyne incognita*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 945, ago. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00945>.

GINÉ, Ariadna; SORRIBAS, Francisco J. Effect of plant resistance and BioAct WG (*Purpureocillium lilacinum* strain 251) on *Meloidogyne incognita* in a tomato–cucumber rotation in a greenhouse. **Pest management science**, v. 73, n. 5, p. 880-887, set. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4357>.

GOULART, Augusto César Pereira; DE ASSIS, Joana Bernardes; CIAMPI, Maisa Boff; CERESINI, Paulo Cezar Ceresini. Ocorrência de mela causada por *Rhizoctonia solani* AG4-HGI em plântulas de algodoeiro no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 68-69, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052011000100012>.

GRIGOLLI, José Fernando Jurca; ASMUS, Guilherme Lafourcade. Manejo de Nematoides na Cultura da Soja. *In*: LOURENÇÃO, A. L. F.; GRIGOLLI, J. F. J.; MELOTTO, A. M.; PITOL, C.; GITTI, D. de C.; ROSCOE, R. (Ed.). **Tecnologia e produção: Soja 2013/2014**. Maracaju, MS: Fundação MS, 2014. p. 194-203. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/985986>. Acesso em: 12 fev. 2022.

HU, Jianyang *et al.* Abundant and diverse fungal microbiota inhabit the white females and brown cysts of the cereal cyst nematode. **Applied Soil Ecology**, v. 147, p. 103372, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103372>

ISAAC, G. S.; EL-DERINY, M. M.; TAHA, R. G. Eficácia de *Purpureocillium lilacinum* AUMC 10149 como agente de biocontrole contra o nematoide *Meloidogyne incognita* que infecta plantas de tomate. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.253451>.

KIM, Tae Yoon; JANG, Ja Yeong; JEON, Sun Jeong; LEE, Hye Won; BAE, Chang-Hwan; YEO, Joo Hong; LEE, Hyang Burm; KIM, In Seon; PARK, Hae Woong; KIM, Jin-Cheol. Nematicidal activity of kojic acid produced by *Aspergillus oryzae* against

Meloidogyne incognita. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 26, n. 8, p. 1383-1391, maio. 2016. DOI: <https://doi.org/10.4014/jmb.1603.03040>.

LABORDE, M. C. F.; BOTELHO, D. M. dos S.; RODRIGUEZ, G. A. A.; RESENDE, M. L. V. de; QUEIROZ, M. V. de; BATISTA, A. D.; CARDOSO, P. G.; PASCHOLATI, S. F.; GUSMÃO, L. F. P.; MARTINS, S. J.; MEDEIROS, F. H. V. de. *Phialomyces macrosporus* reduces *Cercospora coffeicola* survival on symptomatic coffee leaves. **Coffee Science**, v. 14, n. 1, p. 1-11, jan./mar. 2019. Disponível em: <http://www.coffeescience.ufla.br/index.php/Coffeescience/article/view/1448>. Acesso em: 13 fev. 2022.

LESLIE, John F; SUMMERELL, Brett A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Iowa: Blackwell Publishing, 2006.

LI, Juan; ZOU, Chenggang; XU, Jianping; JI, Xinglai; NIU, Xuemei; YANG, Jinkui; HUANG, Xiaowei; ZHANG, Ke-Qin. Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions: basis for biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual review of phytopathology**, v. 53, p. 67-95, maio. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120336>.

LIU, Junjie et al. Continuous cropping of soybean alters the bulk and rhizospheric soil fungal communities in a Mollisol of Northeast PR China. **Land Degradation & Development**, v. 30, n. 14, p. 1725-1738, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/ldr.3378>

MACÊDO, Amanda Gomes. **Dinâmica populacional de *Heterodera glycines* raça 5 e *Pratylenchus brachyurus* em cultivo rotacionado com o grão-de-bico/soja/grão-de-bico**. 2020. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2020.

MACHADO, Andressa Cristina Zamboni ; SILVA, Santino Aleandro da. Extração de Nematoides. *In*:; FERRAZ, Luiz Carlos Camargo Barbosa (eds). **Métodos em Nematologia Agrícola**. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 9-35, 2019.

MACHADO, Andressa Cristina Zamboni; AMARO, Priscila Moreira; SILVA, Santino Aleandro da. Two novel potential pathogens for soybean. **Plos one**, San Francisco, v. 14, n. 8, ago. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221416>.

MARTINS, Pâmela Ponce *et al.* *Rhizoctonia* spp. causing damping-off, root rot and web blight on coriander in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 4, p. 1517-1527, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01228-6>

MATTOS, Vanessa da Silva. **Caracterização e identificação de populações de *Meloidogyne* spp. do arroz, estabelecimento de marcadores SCAR e seleção de novas fontes de resistência em *Oryza* spp. a *M. graminicola***. 2017. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/31395/1/2017_VanessaDaSilvaMattos_PA RCIAL.pdf. Acesso em: 13 fev. 2022.

MEDEIROS, Fabíola Rodrigues. **Patogenicidade de fungos a mosca-negra-dos-citros e compatibilidade entre agrotóxicos e *Purpureocillium lilacinum***. 2016. Tese (Doutorado em Agronomia, Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/141451>. Acesso em: 13 fev. 2022

MENDES, Bruno Leonardo. **Biocontrole de *Meloidogyne javanica* por fungo micorrízico orquidoide (*Waitea circinata*) em tomateiro**. 2018. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2018. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/11542>. Acesso em: 13 jun. 2023.

MIORANZA, Thaísa Muriel; STANGARLIN, José Renato; MÜLLER, Mônica Anghinoni; COLTRO-RONCATO, Sidiane; MEINERZ, Cristiane Claudia; INAGAKI, Adriano Mitio; SWAROWSKY, Rafael Augusto; ESTEVEZ, Rogério Lopes; SCHONS, Bruna Caroline; KUHN, Odair José. Control of *Meloidogyne incognita* in tomato plants with highly diluted solutions of *Thuya occidentalis* and their effects on plant growth and defense metabolism. **Semina**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 2187-2200, jul./ago. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p2187>.

MUFTAH ELTARIKI, Fuzia Elfituri; TIWARI, Kartikeya; ALHOOT, Mohammed Abdelfatah. Molecular characterization and genetic diversity of four undescribed novel oleaginous *Mortierella alpina* strains from Libya. **F1000Research**, London, v. 10, nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.70644.1>.

ORO, Violeta; STANISAVLJEVIC, Rade; NIKOLIC, Bogdan; TABAKOVIC, Marijenka; SECANSKI, Mile; TOSI, Solveig. Diversity of Mycobiota Associated with the Cereal Cyst Nematode *Heterodera filipjevi* Originating from Some Localities of the Pannonian Plain in Serbia. **Biology**, v. 10, n. 4, p. 283, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10040283>.

OZIMEK, Ewa; HANAKA, Agnieszka. Mortierella species as the plant growth-promoting fungi present in the agricultural soils. **Agriculture**, v. 11, n. 1, p. 7, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture11010007>

PACHECO, Paulo Victor Magalhães; CAMPOS, Vicente Paulo; TERRA, Willian César; PEDROSO, Marcio Pozzobon; PAULA, Letícia Lopes de; SILVA, Maysa Siqueira Gonçalves da; MONTEIRO, Thalita Suelen Avelar; FREITAS, Leandro Grassi de. Attraction and toxicity: Ways volatile organic compounds released by *Pochonia chlamydosporia* affect *Meloidogyne incognita*. **Microbiological Research**, v. 255, p. 126925, fev. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126925>.

PEITL, Douglas Casaroto; ARAUJO, Felipe Andre; GONÇALVES, Ricardo Marcelo; SUMIDA, Ciro Hideki; BALBI-PEÑA, Maria Isabel. Biological control of tomato bacterial spot by saprobe fungi from semi-arid areas of northeastern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1251-1263, maio/jun. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n3p1251>.

PENG, D. L.; PENG, H.; WU, D. Q.; HUANG, W. K.; YE, W. X.; CUI, J. K. First report of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) on soybean from Gansu and

Ningxia China. **Plant disease**, v. 100, n. 1, p. 229-229, out. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-15-0451-PDN>.

PINHEIRO, Jadir Borges; PEREIRA, Ricardo Borges; CARVALHO, Agnaldo Donizete Ferreira de; RODRIGUES, Cecília da Silva Rodrigues; SUINAGA, Fabio Akiyoshi. **Manejo de nematoides na cultura da alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. Circular Técnica, 124. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/960611/manejo-de-nematoides-na-cultura-da-alface>. Acesso em: 13 fev. 2022.

QIU, Wei *et al.* Organic fertilization assembles fungal communities of wheat rhizosphere soil and suppresses the population growth of *Heterodera avenae* in the field. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 1225, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01225>

RASHIDIFARD, Milad *et al.* Suppressive Effect of Soil Microbiomes Associated with Tropical Fruit Trees on *Meloidogyne enterolobii*. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 894, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050894>

RASMANN, Sergio; ALI, Jared Gregory; HELDER, Johannes; PUTTEN, Wim H. van der. Ecology and evolution of soil nematode chemotaxis. **Journal of chemical ecology**, v. 38, n. 6, p. 615-628, abr. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0118-6>.

RIBEIRO, Alany Ingrid; COSTA, Eveline Soares; THOMASI, Sergio Scherrer; BRANDAO, Dayson Fernando Ribeiro; VIEIRA, Paulo Cesar; FERNANDES, Joao Batista; FORIM, Moacir Rossi; FERREIRA, Antonio Gilberto; PASCHOLATI, Sergio Florentino; GUSMAO, Luis Fernando Pascholati; SILVA, Maria Fatima das Graças Fernandes da. Biological and chemical control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Stachybotrys levispora* and its secondary metabolite griseofulvin. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 29, p. 7627-7632, jun. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04197>.

ROCHA, Leonardo F.; BOND, Jason P.; FAKHOURY, Ahmad M. Wheat production alters soil microbial profiles and enhances beneficial microbes in double-cropping soybean. **Frontiers in Agronomy**, v. 3, p. 106, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.807112>

RODIUC, Natalia; VIEIRA, Paulo; BANORA, Mohamed Youssef; ENGLER, Janice de Almeida. On the track of transfer cell formation by specialized plant-parasitic nematodes. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 160, maio. 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00160>.

RODRÍGUEZ, Gabriel Alfonso Alvarez; MARIO Sobral de Abreu; PINTO, Felipe Augusto Moretti Ferreira; MONTEIRO, Ana Cristina Andrade; NÚÑEZ, Andrés Mauricio Pinzón; RESENDE, Mario Lucio Vilela de; SOUZA, Jorge Teodorode; MEDEIROS, Flavio Henrique Vasconcelos de Medeiros. *Phialomyces macrosporus* decreases anthracnose severity on coffee seedlings by competition for nutrients and induced resistance. **Biological Control**, v. 103, p. 119-128, dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.08.009>.

ROSA, Tayrlen Eduardo Amorim; SOUZA, Jean Cramenak de; PEREIRA, Wellington José; MOREIRA, Janaina Alves de Almeida; ARAÚJO, Fernando Godinho de. Biological nematicides associated with poultry litter in the control of nematodes in soybean and second corn crop. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, p. 580-589, jul./set. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252021v34n309rc>.

SANTOS, Tereza Beatriz Lima. **O gênero *Cheironchus* Cobb, 1917 (Nematoda, Chromadorida, Selachinematidae) na Foz do Rio Doce-ES: composição e padrões de distribuição das espécies**. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológica) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2017, p. 37. Disponível em: <http://biologia.ufpa.br/arquivos/tccspublicados/2017/Licenciatura/Tereza%20Beatriz%20Lima%20dos%20Santos.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2022.

SARVEN, Most. Sinthia; AMINUZZAMAN, F. M.; HUQ, Md. Enamul. Dose-response relations between *Purpureocillium lilacinum* PLSAU-1 and *Meloidogyne incognita* infecting brinjal plant on plant growth and nematode management: a greenhouse study. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 1-9, abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0128-6>.

SILVA BRANDÃO, Mauricio. SILVA ABREU, Lucas. GERIS, Regina. *Phialomyces macrosporus*: Chemical Constituents, Antimicrobial Activity and Complete NMR Assignments for the 7, 7'-Biphyscion. **Chemistry & biodiversity**, v. 16, n. 9, p. e1900353, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900353>.

SILVA, Maria do Carmo Lopes da; SANTOS, Carmem Dolores Gonzaga; SILVA, Gilson Soares da. Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 4, p. 710-719, out./dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160085>.

SILVA, Rodrigo V.; OLIVEIRA, Rosângela D.L.; FERREIRA, Patrícia S.; SÊNI, Dalila J.; CASTRO, Douglas B. Preservação da capacidade reprodutiva de *Meloidogyne exigua* em mudas de pimentão. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa. v. 33, n. 5, set./out. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762008000500003>.

SILVA, Silas D. **Avaliação da Patogenicidade de Isolados de *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinum* Sobre Ovos de *Meloidogyne enterolobii***. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília. 2015.

SOLINO, Antônio Jussê da Silva; OLIVEIRA, Juliana Batista Santos; SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas; ALENCAR, Marianna Santos Rodrigues; RIBEIRO, Lilianne Martins. Antagonistic potential and in vitro control of *Alternaria solani* by saprobic fungi. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 3, p. 199-204, jul./set. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2202>.

SONG, Jie; LI, Shuxian; WEI, Wei; XU, Yanli; YAO, Qin. Assessment of parasitic fungi for reducing soybean cyst nematode with suppressive soil in soybean fields of northeast China. **Acta Agriculturae Scandinavica: Section B, Soil & Plant Science**, v. 67, n. 8, p. 730–736, jun. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/09064710.2017.1343377>.

SUN, Man-Hong; GAO, Li; SHI, Yan-Xia; LI, Bao-Jü; LIU, Xing-Zhong. 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, set. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.03.006>.

TAYLOR, A.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of rootknot nematodes(Meloidogyne species)**. Raleigh: North Caroline State University Graphics, 1978. 111 p.

TOPALOVIĆ, Olivera; HUSSAIN, Muzammil; HEUER, Holger. Plants and associated soil microbiota cooperatively suppress plant-parasitic nematodes. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 313, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00313>

VERDEJO-LUCAS, S.; VIERA, A.; STCHIGEL, A. M.; SORRIBAS, F. J. Screening culture filtrates of fungi for activity against *Tylenchulus semipenetrans*. **Spanish journal of agricultural research**, v. 7, n. 4, p. 896-904, dez. 2009. DOI: <https://doi.org/10.5424/sjar/2009074-1103>.

WARRIOR, Prem; REHBERGER, Linda A.; BEACH, Mark; GRAU, Philip A.; KIRFMAN, Gary W.; CONLEY, James M. Commercial development and introduction of DiTera™, a new nematicide. **Pesticide Science**, v. 55, n. 3, p. 376-379, ago. 1999. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199903\)55:3<376::AID-PS918>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199903)55:3<376::AID-PS918>3.0.CO;2-S).

XIANG, Ni.; LAWRENCE, Kathy S.; DONALD, Patricia A. Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 7-8, p. 449-458, abr. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12712>.

YOUSSEF, Mahmoud MA; EL-NAGDI, Wafaa MA; LOTFY, Dalia EM. Evaluation of the fungal activity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus* as biocontrol agents against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on cowpea. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 44, n. 1, p. 1-11, jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00367-z>.

ZHAI, Yile; SHAO, Zongze; CAI, Minmin; ZHENG, Longyu; LI, Guangyu; HUANG, Dian; CHENG, Wanli; THOMASHOW, Linda S.; WELLER, David M.; YU, Ziniu; ZHANG, Jibin. Multiple modes of nematode control by volatiles of *Pseudomonas putida* 1A00316 from Antarctic soil against *Meloidogyne incognita*. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 253, fev. 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00253>.