



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA

USO DE CULTIVARES RESISTENTES E FUNGOS NEMATÓFAGOS
NO MANEJO DE *Meloidogyne enterolobii* EM ALFACE

ISIS LORENN A MEDEIROS ROZÁRIO

São Luís
2013

ISIS LORENNNA MEDEIROS ROZÁRIO
Engenheira Agrônoma

**USO DE CULTIVARES RESISTENTES E FUNGOS NEMATÓFAGOS
NO MANEJO DE *Meloidogyne enterolobii* EM ALFACE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão, para a obtenção do título de Mestre em Agroecologia.

Orientador: Prof. Dr. Gilson Soares da Silva

São Luís - Ma

2013

Rozário, Isis Lorena Medeiros.

Uso de cultivares resistentes e fungos nematófagos no manejo de *Meloidogyne enterolobii* em alface / Isis Lorena Medeiros Rozário.– São Luís, 2013.

49 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, 2013.

Orientador: Prof. Gilson Soares da Silva

1.*Lactuca sativa*. 2.Nematóide das galhas. 3.Resistência genética. 4.*P. lilacinus*.
Chlamydomonas.5. *P. chlamydomonas* I.Título

CDU: 635.52-29

ISIS LORENNNA MEDEIROS ROZÁRIO

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão, para a obtenção do título de Mestre em Agroecologia.

Orientador: Prof. Dr. Gilson Soares da Silva

Aprovada em 19/07/2013

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Gilson Soares da Silva – UEMA
Orientador

Prof. Dr^a. Antônia Alice Costa Rodrigues – UEMA

Prof. Dr. Jorge Luiz Oliveira Fortes – UEMA

São Luís
2013

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, autor de todas as coisas, possuidor de todo conhecimento, que nos presenteou com inteligência e permitiu que este trabalho fosse realizado.

A Universidade Estadual do Maranhão que apóia a pesquisa e concessão de ajuda de custo nas apresentações de trabalhos científicos fora do estado.

A CAPES pela concessão da bolsa.

A minha família que me apóia e me ajuda em toda a jornada da minha formação acadêmica e profissional e da formação do meu caráter principalmente a Eterna Educadora minha Mãe a Jeane, minha Irmã Carolinna, meu Irmão João e ao meu Pai de Coração, Arnaiz. Amo muito todos vocês.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gilson Soares, pela amizade, por seu compromisso, dedicação e experiência que conduziu com sabedoria todo desenvolvimento da pesquisa.

As Professoras Dr^a Alice e Dr^a Ilka e ao Prof. Dr. Jorge Fortes pelas contribuições no exame de qualificação e na defesa desse trabalho.

A todos os companheiros e amigos do laboratório Any, Raycene, Edilene, Elton, Jenifer, Ednaldo, Fagner e Isabel.

Aos Srs. René e Neto por sempre nos ajudar quando solicitados.

Aos professores do Programa de Pós- Graduação em Agroecologia da Uema, pela dedicação e ensinamentos durante o período do curso.

LISTA DE SIGLAS

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization.

SBN- Sociedade Brasileira de Nematologia.

APN- Associação Portuguesa dos Nutricionistas

CEAGESP- Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo-

SEBRAE- Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e pequenas empresas

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

UEMA- Universidade Estadual do Maranhão

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Índices de galhas e de massas de ovos de <i>Meloidogyne</i> (TAYLOR; SASSER, 1978).	25
Tabela 2 -Reação das cultivares quanto a reação a <i>Meloidogyne</i> (OOSTENBRINK, 1966).....	25
Tabela 3 -Fator de reprodução e reação de cultivares de alface ao <i>Meloidogyne enterolobii</i>	31
Tabela 4 : Peso fresco (g) da parte aérea e do sistema radicular de cultivares de alface, inoculadas com <i>M. enterolobii</i>	35
Tabela 5 -Efeito de <i>P. lilacinus</i> veiculado em arroz sobre <i>M. enterolobii</i> nas cultivares ‘Boston Branca’ e ‘Grandes Lagos 659’	36
Tabela 6 - Efeito de <i>P. chlamydosporia</i> veiculado em arroz, sobre <i>M. enterolobii</i> nas cultivares ‘Simpson Semente preta’ e ‘Vitória de Verão’	38

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Experimento na casa de vegetação: A- Plantas de alface recém inoculas; B- Plantas de alface se no ponto de colheita.....24
- Figura 2-** Sistema radicular das cultivares de alface resistente ao *Meloidogyne enterolobii*..33
- Figura 3-** Sistema radicular (natural e coradas com fucsina ácida)das cultivares de alface suscetíveis ao *Meloidogyne enterolobii*.....34

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Cultura da Alface	13
2.2 Fitonematoides parasitas da alface.....	15
2.3 <i>Meloidogyne enterolobii</i>	16
2.4 Manejo dos nematoides das galhas.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Obtenção e multiplicação de <i>Meloidogyne enterolobii</i>	22
3.2 Produção de mudas de alface.....	23
3.3 Isolamento e produção dos inóculos de <i>Paecilomyces lilacinus</i> e <i>Pochonia</i> <i>chlamydosporia</i> em grãos de arroz	23
3.4 Implantação dos experimentos	24
3.4.1 Experimento 1 : Reação de Cultivares de Alface a <i>Meloidogyne enterolobii</i>	24
3.4.2 Experimento2: Efeito do fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i> no controle de <i>Meloidogyne</i> <i>enterolobii</i> na cultura da alface.	26
3.4.3 Experimento3: Efeito do fungo <i>Pochonia chlamydosporia</i> no controle de <i>Meloidogyne</i> <i>enterolobii</i> na cultura da alface.	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Experimento 1 : Reação de Cultivares de Alface a <i>Meloidogyne enterolobii</i>	30
4.2 Experimento 2: Efeito do fungo <i>Paecilomyces lilacinus</i> no controle de <i>Meloidogyne</i> <i>enterolobii</i> na cultura da alface.	36
4.3 Experimento 3: Efeito do fungo <i>Pochonia chlamydosporia</i> no controle de <i>Meloidogyne</i> <i>enterolobii</i> na cultura da alface.	38
5 CONCLUSÕES	40
6 REFERÊNCIAS	41

USO DE CULTIVARES RESISTENTES E FUNGOS NEMATÓFAGOS NO MANEJO DE *Meloidogyne enterolobii* EM ALFACE

Autora: Isis Lorena Medeiros Rozário

Orientador: Prof. Dr. Gilson Soares da Silva

RESUMO

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) estão entre os mais importantes patógenos da cultura da alface (*Lactuca sativa* L.). O controle desses organismos é difícil e o uso de nematicidas não é recomendado em culturas de ciclo curto. Métodos alternativos, que não agridam o meio ambiente, são os mais indicados, destacando-se o uso de cultivares resistentes e o controle biológico. Neste trabalho, procurou-se avaliar a reação das cultivares comerciais de alface e o efeito de *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia* sobre *Meloidogyne enterolobii*. Dezoito cultivares de alface foram inoculadas com 5000 ovos do nematoide, em experimento inteiramente casualizado com 10 repetições. Trinta dias após, as plantas foram avaliadas quanto aos índices de galhas, número de ovos e o fator de reprodução. Na verificação do efeito dos fungos nematófagos, foram incorporados em vasos contendo solo autoclavado dosagens de 5 e 10 g de arroz não colonizado e colonizados com *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia*, em seguida, infestados com 5000 ovos de *M. enterolobii*. Os experimentos foram conduzidos em esquema fatorial 2x5 com 8 repetições, sendo duas cultivares de alface suscetíveis e cinco tratamentos diferentes. Quinze dias após, uma muda de alface foi transplantada por vaso. As concentrações do inóculo de *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia* foram $4,3 \times 10^8$ e 4×10^6 conídios/g de arroz, respectivamente. As plantas foram avaliadas 30 dias após, quanto ao fator de reprodução. De acordo com resultados as cultivares de alface ‘Lídia’, ‘Crespa de Verão’, ‘Isabela’, ‘Angelina’, ‘Mônica’, ‘Vanda’, ‘Regiane’, ‘Grand rapids-TBR’, ‘Mimosa’ e ‘Babá de Verão’ (Feltrin); comportaram-se como resistentes e as demais comportaram-se como suscetíveis ao nematoide. Os dois fungos foram eficientes no controle do nematoide nas dosagens utilizadas, reduzindo o fator de reprodução a valores menores que 1,0.

Palavras - chaves: *Lactuca sativa*, nematoide das galhas, resistência genética, *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia*

USE OF CULTIVARS RESISTENT AND NEMATOPHAGOUS FUNGI IN MANAGEMENT OF *Meloidogyne enterolobii* IN LETTUCE

AUTHOR: Isis Lorena Medeiros Rozário
ADVISER: Prof. Dr. Gilson Soares da Silva

ABSTRACT

The root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are among the most important pathogens of lettuce (*Lactuca sativa* L.). The control of these organisms is difficult and the use of nematicides is not recommended for short cycle crops. Alternative methods that do not harm the environment, are the most suitable, especially the use of resistant varieties and biological control. In this study, we sought to evaluate the reaction of lettuce cultivars and the effect of *Paecilomyces lilacinus* and *Pochonia chlamydosporia* on *Meloidogyne enterolobii*. Eighteen lettuce cultivars were inoculated with 5000 nematode eggs in completely randomized design with 10 replications. Thirty days after the plants were evaluated for levels of galls, number of eggs and reproduction factor. In the verification of the effect of nematophagous fungi are incorporated in pots containing autoclaved soil dosages of 5 and 10 g rice not colonized and colonized with *P. lilacinus* and *P. chlamydosporia* then infested 5000 eggs infested with *M. enterolobii*. The experiments were conducted in a 2x5 factorial arrangement with 8 repetitions, two lettuce cultivars susceptible and five different treatments. The concentrations of inoculums the *P. lilacinus* and *P. chlamydosporia* were $4,3 \times 10^8$ and 4×10^6 conidia / g rice, respectively. According to results as plants were evaluated 30 days, as the reproduction factor. The lettuce cultivars 'Lídia', 'Crespa de Verão', 'Isabela', 'Angelina', 'Mônica', 'Vanda', 'Regiane', 'Grand rapids-TBR', 'Mimosa' and 'Babá de Verão' (Feltrin); behaved as resistant and the other behaved as susceptible to nematodes. The two fungi were effective in controlling nematodes in the dosages used, reducing the reproduction factor to values less than 1.0.

Key words: *Lactuca sativa*, root-knot nematodes, resistance gene, *P. lilacinus* and *P. chlamydosporia*.

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa L.*) é uma das hortaliças mais importante economicamente para o Brasil. É consumida crua na forma de salada, além de ser muito atrativa para os horticultores pela facilidade de cultivo e pela precocidade (PIMENTA; CARNEIRO, 2002; FIORINI et al., 2005).

Diversos problemas fitossanitários são responsáveis por elevadas perdas na produção de alface no campo, destacando-se doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Entre os fitonematoides parasitos da alface, destacam-se aqueles do gênero *Meloidogyne*, especialmente as espécies *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. Em 2001, uma outra espécie dos nematoides de galhas, *M. enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) foi encontrada no Brasil, destruindo pomares de goiabeira nos estados de Pernambuco e Bahia (CARNEIRO et al., 2001). Essa espécie apresenta alta agressividade para inúmeras culturas de interesse econômico, além do que pode quebrar a resistência de plantas resistentes a outras espécies de *Meloidogyne*. Embora a cultura seja vulnerável ao ataque de nematoides, são escassos os estudos sobre o efeito de *M. enterolobii* em alface (MELO et al., 2011). Quando atacadas por nematoides das galhas, as plantas de alface apresentam deficiência mineral, amarelecimento e nanismo, o que as torna impróprias para o consumo, causando prejuízo econômico ao produtor (CHARCHAR; MOITA, 1996).

O estado do Maranhão apresenta condições favoráveis para a multiplicação dos fitonematoides. De acordo com Neves et al. (2011) em regiões de clima quente com temperatura em torno de 25 °C a 30 °C, esses fitoparasitas tem seu ciclo de vida completo em, aproximadamente, 28 dias. Na ocorrência de infestação nas áreas, sua erradicação ou eliminação por completo é bastante difícil. Várias medidas de controle são utilizadas para reduzir sua população (FERRAZ et al., 2010). No caso da alface, por ser uma cultura de ciclo curto, o controle químico com nematicidas não é recomendado, devido os efeitos residuais desses produtos na planta. De acordo com Bettiol e Ghini (2001), o uso intensivo de pesticidas na agricultura tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais; a intoxicação de agricultores; a resistência de patógenos, de pragas e de plantas invasoras a certos pesticidas; o desequilíbrio biológico, alterando a ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica; a eliminação de organismos benéficos; e a redução da biodiversidade.

Além disso, esses insumos químicos encarecem os custos de produção e o uso somente de nematicida não garante um controle eficiente desses patógenos (PEREIRA, 2008).

Diante desse cenário, o mercado consumidor vem exigindo alimentos seguros, isentos de resíduos agroquímicos, por isso faz-se necessário utilizar medidas de controle mais sustentáveis que vise diminuir riscos ao meio ambiente e ao homem. Várias pesquisas são desenvolvidas na busca de novas tecnologias e práticas de manejo sustentável de fitonematoide. Sabe-se que a utilização de cultivares resistentes é uma das práticas alternativas de controle de fitonematoides mais acessíveis ao agricultor por ser um método barato de fácil aplicabilidade no campo. Para Wilcken et al.(2005), o uso de cultivares resistentes seria ideal no controle de nematoides fitoparasitas em alface. Nesse sentido, reconhecer fontes de resistência genética das diferentes cultivares de alface por meio do fator de reprodução do *Meloidogyne enterolobii* é um dado importante na escolha da cultivar a ser plantada em áreas infestadas com nematoide.

A utilização de microrganismos antagonistas, principalmente fungos tem se mostrado bastante promissor no controle dos nematoides. *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson é um fungo do solo que tem se mostrado efetivo no biocontrole de espécies de *Meloidogyne* (KERRY, 1990). Outro fungo também com destaque para essa finalidade é *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & W. Gams (= *Verticilium chlamydosporium*). Ambos atuam parasitando ovos de fêmeas de nematoides.

Diante disso, essa pesquisa teve por objetivo avaliar a reação das cultivares comerciais de alface e o efeito de *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia* sobre *Meloidogyne enterolobii*, como uma das alternativas de controle.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da Alface

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças mais populares e consumidas no Brasil e no mundo (HENZ; SUINAGA, 2009), pertencente à família das Asteraceae, com origem em regiões de clima temperado, no sul da Europa e Ásia Ocidental (FILGUEIRA, 2007). Evidências mostram que esta planta já era conhecida no Antigo Egito por volta do ano 4.500 a.C, na Grécia e em Roma (SANTOS, 1993). Acredita-se que em 1650, os portugueses introduziram a cultura em terras brasileiras (SALA; COSTA, 2012).

É uma planta anual, herbácea, delicada, com caule curto, onde se prendem as folhas. Estas são largas e crescem em roseta, em volta do caule, podendo ser lisas ou crespas, formando ou não uma “cabeça”, com coloração em vários tons de verde, ou roxo, conforme a cultivar (FILGUEIRA, 2007). As raízes são do tipo pivotante, podendo atingir até 60 cm de profundidade, também apresentam ramificações delicadas e finas que exploram os primeiros 25 cm do solo (MURAYMA, 1983). A fase reprodutiva da planta, que se inicia com o pendoamento, ocorre em temperaturas mais elevadas e dias longos. No cultivo sob condições de temperaturas elevadas, acima de 25°C, e dias longos ocorre redução da fase vegetativa e pendoamento precoce (REZENDE et al., 2007).

Essa hortaliça têm grande importância na alimentação humana. Suas folhas são consumidas *in natura* em saladas e sucos, apresenta um grande valor nutricional e baixo teor calórico (100g de alface contém cerca de 12 Kcal). É fonte de fibras, potássio e vitaminas do complexo B, vitamina K, essencial para a coagulação sanguínea, ácido fólico, beta-caroteno ou pró-vitamina A, antioxidante, relaxante e calmante, uma vez que o seu talo apresenta lactucina uma substância biologicamente ativa que promove o relaxamento muscular e mental, é de fácil digestão, refrescante e diurético (APN, 2010).

Estima-se que o Brasil possua uma área aproximadamente de 35 mil hectares de alface plantados, caracterizados pela produção intensiva, pelo cultivo em pequenas áreas e agricultores familiares, gerando cerca de cinco empregos diretos por hectare (COSTA; SALA, 2005). É a folhosa mais comercializada na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo- CEAGESP, apresentando um volume 42.879 toneladas que correspondem no valor de 31,42 % na participação do total de hortaliças folhosas (HORTIBRASIL, 2010).

No Maranhão, a alface está entre as hortaliças produzidas e mais consumidas em São Luís assim como a melancia, o tomate, o cheiro verde e a abóbora (SEBRAE, 2009).

Por ser uma planta originária de clima temperado a alface se desenvolve melhor em temperaturas amenas. Com o avanço dos trabalhos de melhoramento no país, foi possível o desenvolvimento de cultivares adaptadas ao calor e resistentes ao pendoamento precoce (REZENDE, et al., 2007).

As cultivares mais conhecidas e consumidas no Brasil são as do tipo crespa e lisa, algumas das quais foram melhoradas para o cultivo de verão ou adaptadas para regiões tropicais. Nos últimos anos também aparecerem cultivares roxas e com as folhas frisadas (HENZ; SUINAGA, 2009).

De acordo com Filgueira (2007), estas podem ser classificadas pelo aspecto das folhas e pela formação ou não da cabeça, existindo assim seis grupos ou tipos de alface, a seguir apresentados:

- a) Tipo Repolhuda-Crespa (americana): Com folhas crespas e bem consistentes, com nervuras destacadas, formando cabeça compacta;
- b) Tipo Repolhuda-Manteiga: Com folhas lisas e delicadas, de coloração verde-amarelada e aspecto amanteigado, formando uma típica cabeça compacta;
- c) Tipo Solta-Lisa: com folhas macias, lisas e soltas, não havendo formação de cabeça;
- d) Tipo Solta-Crespa; com folhas crespas, consistentes e soltas, não havendo formação de cabeça;
- e) Tipo Mimosa; com folhas delicadas e com aspecto “arrepinado”;
- f) Tipo Romana, com folhas alongadas e consistentes, com nervuras protuberantes, formando cabeças fofas.

Existem, pelo menos, quatro sistemas produtivos de alface no Brasil: o cultivo convencional e o sistema orgânico em campo aberto; o cultivo protegido no sistema hidropônico e no solo (FILGUEIRA, 2005).

A alface é bastante suscetível às doenças fato esse que vem limitando a produção dessa hortaliça, dentre elas aquelas causadas por fitonematoides, principalmente espécies do gênero *Meloidogyne*, devendo ser evitado, o quanto possível, o uso de produtos tóxicos no controle fitossanitário, pois estes podem deixar resíduos comprometendo a saúde do consumidor.

2.2 Fitonematoides parasitas da alface

Os fitonematoides são animais que se alimentam de células vivas das plantas (parasitas obrigatórios), principalmente de seus órgãos subterrâneos, tais como raízes, tubérculos e bulbos. Pertencentes ao Filo Nematoda, estes apresentam forma alongada e não segmentados, medindo de 0,3 a 3,0 mm de comprimento e o diâmetro de 0,015 a 0,050 mm (FERRAZ et al., 2010).

É difícil quantificar os prejuízos causados por estes organismos à agricultura, no entanto Silva (2011), estimou que 12 a 15 % da produção mundial de alimentos sejam perdidos anualmente em razão de problemas causados por fitonematoides. O grau de danos causados depende da densidade populacional dos nematoides presentes, da suscetibilidade da cultura e das condições ambientais, tais como fertilidade, umidade e presença de organismos patogênicos que podem interagir com os nematoides (TIHOHOD, 1993).

Há cerca de 80.000 espécies de nematoides já descritas, mas estima-se que o número total de espécies vivas seja de aproximadamente um milhão. Dentre estas há vários gêneros relacionados aos cultivos agrícolas, entre eles os mais importantes são os chamados ‘nematoides de galhas’ (gênero *Meloidogyne*), os nematoides de cistos (*Heterodera* e *Globodera*), os nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus*) e o nematoide cavernícola (*Radopholus*) (SBN, 2011).

As espécies que causam danos em alface no Brasil são: *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* (TAYLOR; SASSER, 1978; CHARCHAR, 1995) e *M. petuniae*. As espécies *M. incognita* e *M. javanica* são encontradas com maior frequência em regiões de alta temperatura (25-28°C); *M. arenaria* em áreas do Centro-Oeste com temperaturas em torno de 25°C; *M. hapla* em áreas das regiões Sudeste e Sul, com temperaturas que variam de 12 a 24°C e *M. petuniae* em áreas restritas da região Centro-Oeste, onde a temperatura pode variar de 12 a 28°C (CHARCHAR, 1995). Os nematoides formadores de galhas são endoparasitas do sistema radicular, que na fase adulta, na reprodução, ocorre formação de um sítio de alimentação. Essa característica auxilia no diagnóstico desta praga. As presenças das galhas impedem absorção de água e nutrientes para a planta de alface, causando murcha nas folhas nos horários mais quentes do dia, além dos sintomas de amarelecimento e crescimento reduzido (CHARCHAR; MOITA, 2005).

2.3 *Meloidogyne enterolobii*

Meloidogyne enterolobii (Yang e Eisenback), teve seu relato inicial na China, em 1983, acabou confundida com outra espécie descrita em 1988 como *M. mayaguensis* (Rammah & Hirschmann) em Porto Rico. Em 2009, consagrou-se a sinonimização entre ambas, prevalecendo *M. enterolobii*, pertencente à família Heterodeidae Filipjev & Scgrnmans Stekhoven, 1941 (PERRY et al., 2009).

Essa espécie é conhecida como o mais agressivo nematoide de galhas, isto é, uma combinação de uma elevada taxa de reprodução, a indução de galhas grandes e uma ampla gama de hospedeiros, incluindo hortaliças, plantas ornamentais e plantas daninhas. Embora, a goiabeira seja a cultura que mais sofre perdas com parasitismo desse nematoide, também a virulência apresentada por *M. enterolobii* contra várias fontes de resistência a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* torna uma ameaça em potencial (KARSSSEN et al., 2008). Sua reprodução é feita por partenogênese mitótica obrigatória; no entanto, machos não são incomuns em populações sob condições naturais. A duração do ciclo, determinada em cultivares de tomate, foi de 3,5 semanas à 26° C (SBN, 2012).

M. enterolobii vem causando sérios problemas à produção de inúmeras culturas no mundo: berinjela, pimenta, pimentão, café, goiaba, melancia, brócolis, beterraba. Outras espécies como anonáceas, soja, batata-doce, tabaco, feijão, abóbora, batata, trombeta-dos-anjos entre outras (BRITO et al., 2004). Embora polífaga, a espécie tem se destacado como importante parasita de goiabeira em países produtores, inclusive no Brasil, onde já está amplamente disseminada.

Vários alertas já foram emitidos pela Organização Européia para a Proteção de Plantas (EPPO) nos últimos anos em relação ao grande risco de *M. enterolobii* ser efetivamente introduzida na Europa. Na Holanda, o serviço quarentenário realizou pelo menos 10 interceptações de produtos agrícolas importados da África, Ásia e América do Sul, infectados com o nematoide, no período entre 1991 e 2007. Na Europa, ocorreram detecções pontuais da espécie na França (um foco controlado em Concarneau, na região da Bretanha) e Suíça (em dois cultivos protegidos de produção de tomate e pepino). A causa maior da preocupação está associada à peculiaridade que o nematoide apresenta de ser virulento a cultivares de plantas olerícolas, como tomate e pimentão (EPPO, 2009). Esse nematoide apresenta uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo na África (Burkina Faso, Costa do Marfim, Malawi, Senegal, África do Sul, Togo), Ásia (China e Vietnã), América do Norte

(EUA), América Central e Caribe (Cuba, Guatemala, Martinica, Guadalupe, Porto Rico, Trinidad e Tobago), América do Sul (Brasil e na Venezuela).

2.4 Manejo dos nematoides das galhas

O controle de fitonematoídeos é bastante difícil. O uso de nematicidas tem tido espaço limitado na agricultura mundial, a partir da década de 1980, devido à persistência no solo, contaminação dos lençóis freáticos e efeitos que prejudicam a saúde humana e a fauna do planeta (FERRAZ et al., 2010). Atualmente na sociedade, é cada vez maior a procura por uma exploração agrícola sustentável. Neste contexto, o controle químico vem sofrendo inúmeras restrições, culminado com a retirada de vários produtos do mercado (SILVA, 2011).

O princípio mais importante a ser utilizado para o manejo de fitonematoídeos é a exclusão, isto é, impedir a entrada destes nas áreas de cultivo, após o estabelecimento destes em uma área de cultivo sua eliminação é praticamente impossível (FERRAZ et al., 2010), no entanto, nem sempre é possível evitar disseminação destes patógenos no campo.

A eficiência na redução desses organismos no solo depende de um conjunto de diferentes medidas associadas, tais como: destruição de restos culturais, pousio, solarização, biofumigação, inundação do solo, adição de matéria orgânica, controle biológico, rotação de cultura, resistência genética, indução de resistência com extratos e óleos essenciais de plantas, culturas armadilhas e plantas antagonistas.

No controle dos nematoides de galhas em áreas de produção de alface é feito, essencialmente, por rotação de culturas e uso de cultivares resistentes. A rotação de culturas é feita com o plantio de espécies de menor suscetibilidade aos nematoides, como gramíneas (milho e sorgo) e leguminosas antagônicas (crotalárias e mucunas), que nem sempre proporcionam controle eficiente dos nematoides no campo. Em experimento realizado em condições de casa de vegetação, com dezenove olerícolas de importância econômica para o estado do Maranhão, foram avaliados o potencial reprodutivo de *M. enterolobii*, onde foi constatada a capacidade prolífaga deste nematóide inviabilizado a prática de controle por meio da rotação de culturas (BITENCOURT ; SILVA, 2010).

Quanto à identificação de fontes de resistência de cultivares de alface ao nematoídeo das galhas, têm sido as preocupações de alguns pesquisadores, especialmente a partir do início da década de 1990 (FIORINI et al., 2007). Charchar (1991), observou que, nas condições de campo em solos infestados em épocas de temperaturas e umidades elevadas, as cultivares de

alface do tipo lisa, quando comparadas com as do tipo crespa, são mais afetadas por nematoide das galhas. Outros trabalhos citam cultivares de alface que apresentaram resistência aos nematoides por *M. incognita* e *M.javanica* (CHARCHAR; MOITA, 1996; MENDES, 1998). Estes autores observaram que cultivares do tipo crespa, especialmente a ‘Grand Rapids’, é uma boa fonte de resistência. Quanto a *M. enterolobii*, poucos trabalhos são encontrados sobre os efeitos deste nematoide na cultura da alface. Martoni et al., (2003) ao avaliar níveis de resistência a nematoide de galha em 12 cultivares de alface (‘Grand Rapids’, ‘Lucy Brown’, ‘Malika’, ‘Regina’, ‘Salinas’, ‘Verônica’, ‘Great Lakes’, ‘Babá de Verão’, ‘Madona’, ‘Mimosa’, ‘Simpson’ e ‘Vitória’), onde as cultivares ‘Grand Rapids’, ‘Lucy Brown’ e ‘Madona’ foram tolerantes a *Meloidogyne* spp., constituindo importantes fontes de resistência em futuros programas de melhoramento.

O manejo também pode influenciar a resposta quanto à resistência da planta ao nematoide, Santos (1995), utilizou a cultivar ‘Elisa’ em solo naturalmente infestado com *Meloidogyne javanica* em diferentes métodos de propagação (semeadura direta, transplântio de mudas de raízes nuas e transplântio de mudas produzidas em bandeja) em estufa, concluiu que houve redução na produção de 78%, 23% e 17%, respectivamente. Um dos critérios para se avaliar a resistência da planta ao fitonematoide é dimensionar as taxas reprodutivas dos mesmos nos hospedeiros (SALGADO et al., 2005).

O uso de cultivares resistentes é um dos métodos mais eficientes e econômicos (ROBERTS, 2002). A partir do conhecimento prévio da população de nematoides presentes na área de cultivo, o agricultor deve escolher cultivares geneticamente resistentes.

Algumas vantagens: 1) pode inibir a reprodução do nematoide; 2) permite uma rotação de cultura por menos tempo e melhor uso do solo; 3) não produz resíduos tóxicos; 4) não requer técnicas ou equipamentos especiais para ser utilizada; 5) não traz custos adicionais ao produtor (COOK; EVANS, 1987).

Outros termos são utilizados relacionados à resistência de plantas a nematoides, imunidade, tolerância, intolerância e suscetibilidade, conceitos estes que não apresentam clara distinção. A planta apresenta imunidade quando é incapaz de permitir o desenvolvimento e multiplicação dos nematoides no interior dos seus tecidos. Tolerância e intolerância são termos utilizados para descrever a resposta da planta ao parasitismo, onde plantas consideradas tolerantes são capazes de suportar ou se recuperar de danos causados pelo nematoide e as intolerantes apresentam crescimento reduzido podendo até chegar à morte (FERRAZ et al., 2010).

Cultivares de alface resistentes tem sido eficiente no controle dos nematoides das galhas nas condições de campo, tornando se necessária a avaliação contínua de novas fontes de resistência. Novas cultivares, principalmente as do tipo americanas, surgem anualmente no mercado brasileiro (CHARCHAR ; MOITA, 2005). Porém, a indisponibilidade de genótipos resistentes não permite que essa forma de manejo seja mais amplamente adotada. A prospecção de novas fontes de resistência deve ser contínua, ampliando o estudo em diferentes bancos de germoplasma, principalmente visando resistência múltipla (FERRAZ et al., 2010), por isso se faz necessário a realização de pesquisas que identifiquem cultivares resistentes a nematoides. Porém, uma dificuldade sobre a utilização intensa de genótipos resistentes é o fato dos fitonematoides apresentarem variabilidade genética o que pode ocasionar quebra da resistência devido à pressão de seleção (VIERA, 2011). Isso reforça a importância de associar outras medidas de controle integrado.

Vários fatores influenciam a densidade populacional de nematoides no solo, sejam esses fatores físicos (temperatura, umidade e aeração), químicos (defensivos, fertilizantes e também biológicos. O componente biológico do ecossistema do solo é particularmente importante em limitar ou estabilizar as populações dos nematoides, através de mecanismos de competição, parasitismo, predação e produção de compostos tóxicos. A ação desses organismos na manutenção dessas populações a níveis inferiores do que ocorreria na sua ausência é geralmente conhecido como controle biológico (STIRLING, 1991).

Dentre os antagonistas dos nematoides, destacam-se os vírus, bactérias, fungos, ácaros, turbelários e insetos (BARRON, 1977). Destes, os fungos são os mais promissores para o controle biológico (FERRAZ, 1992), pois ocorrem abundantemente no solo, podem utilizar vários substratos orgânicos e microhabitats, o que promove inúmeras oportunidades destes interagirem com os nematoides (STIRLING, 1991).

Arthrobotrys oligospora (Fresenius) foi o primeiro fungo nematófago isolado e descrito por Fresenius, no ano de 1852 (GRAY, 1988). Pesquisas com fungos nematófagos tiveram início há mais de 130 anos, com observações feitas por Lodhe em 1874, com o fungo endoparasito *Harposporium anguillulae* Lohde, conforme menção de Novaretti (1986). O aumento do interesse pelo controle biológico de nematoides ocorreu após a demonstração de que algumas espécies de fungos endoparasitas impediam o aumento da população do nematóide *Heterodera avenae* Wollenweber e reduziam a população de nematóides causadores de galhas (JATALA et al., 1981; KERRY et al., 1982).

Atualmente no mercado já são encontrados produtos a base de fungos e bactérias com a finalidade de controlar os fitonematóides a exemplos BioAct WG®, Biomyces®, Biostar®, Nema Kontrol®, Nemat®, Paecil®, dentre outros produtos comerciais, porém existem alguns problemas encontrados na utilização desses, destacam-se a falta de informações sobre dosagens, época, forma de aplicação e armazenamento. Esses fatores comprometem a eficiência do produto (SILVA, 2011).

Os fungos podem atuar de diferentes formas sobre os fitonematóides, alguns são parasitas de ovos e fêmeas, outros produzem toxinas, outros produzem esporos móveis que se aderem a cutículas e outros são predadores, produzindo estruturas especializadas de captura (FERRAZ ; SANTOS, 1995; CHEN; DICKSON, 2004).

Dentre os fungos parasitas de ovos e de fêmeas é o que apresenta maior relevância no controle de fitonematóides, com destaque para as espécies *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia*, conhecida anteriormente como *Verticillium chlamydosporium* Goddard. Normalmente, esses fungos são saprofitos, logo, independem da presença de ovos de nematóides no solo para a sua sobrevivência, crescendo satisfatoriamente em matéria orgânica. Em função dessa característica, são mais fáceis de estabelecer no solo, quando comparados com os fungos predadores. Colonizam rapidamente ovos e fêmeas de nematóides, destruindo de uma só vez grande quantidade de indivíduos, especialmente no caso do nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) e dos cistos (*Heterodera* spp., *Globodera* spp) (STIRLING, 1991).

Paecilomyces lilacinus cresce bem às temperaturas entre 15 e 30 °C, com ótimo entre 25 e 30 °C. Sua adaptabilidade a uma ampla faixa de pH do solo torna-o um organismo competitivo em solos agricultáveis (VILLANUEVA ; DAVIDE, 1983; JACOBS et al., 2003).

Uma das formas de cultivo de *P. lilacinus* é sobre grãos de arroz, trigo, sorgo entre outros. Nesses substratos o fungo cresce e esporula abundantemente. Freitas et al (1999) utilizaram grãos de arroz como meio de cultura para crescimento de *P. lilacinus*, na produção de mudas de tomateiro, observou-se que houve redução de número de galhas causada por *M. javanica*.

O processo de infecção de ovos de *Meloidogyne* spp. por *P. lilacinus* inicia-se com o crescimento da hifa do fungo sobre a gelatina que recobre a massa de ovos do nematóide. A colonização dos ovos aparenta ocorrer pela simples penetração da parede do ovo por uma hifa individual, auxiliada por atividades mecânicas e/ou enzimáticas (JATALA, 1986). A protease serina produzida por *P. lilacinus* possui um papel importante na penetração do fungo através

da cutícula dos ovos dos nematóides (BONANTS et al., 1995). Após a penetração, em curto espaço de tempo, os ovos são completamente colonizados pelo fungo. Esse fungo penetra nos ovos de *Meloidogyne* spp. mais rapidamente que nos de *Globodera* spp. ou de *Nacobbus* spp.

Soares et al (2004), avaliaram o controle biológico de *M. javanica* em tomateiro, com *Arthoborus oligospora* (Fresenius), *Dactylella leptospora* (Drechsler), *Monacrosporium* spp e *P. lilacinus*, e constataram que, todos os fungos reduziram o número de galhas e massas de ovos na raízes e o número de juvenis no solo.

Pochonia chlamydosporia é capaz de sobreviver na ausência do hospedeiro, visto que produz clamidósporos, o que o torna mais resistente a condições adversas do ambiente que outros, além de ser facilmente cultivado *in vitro*. É um parasito de ovos dos nematóides de cisto e dos formadores de galha (FREIRE ; BRIDGE, 1985). O inóculo de *P. chlamydosporia*, geralmente, é produzido nos meios de cultivo contendo grãos de milho, de trigo ou de cevada triturados (KERRY; BOURNE, 2002). Outros substratos, considerados resíduos culturais ou não, como folhas de milho, de nim, de berinjela, dentre outros, também já foram testados para a produção de inóculo do fungo (BOURNE et al., 1999), outro meio utilizado são grãos de arroz. Dallemole-Giaretta et al., (2011) ao avaliarem diferentes substratos, teores de água e formas de inóculo para a produção *in vitro* de clamidósporos de *P. chlamydosporia*, testando os substratos grãos de milho triturado, grãos de arroz e casca de café e os tipos de inóculo meio líquido concentrado ou diluído (1:40) e discos de cultura, colonizados por *P. chlamydosporia*, concluíram que todos os tratamentos apresentaram grande produção de clamidósporos, com destaque ao substrato contendo grãos de arroz.

Leij e Kerry (1991), avaliaram três isolados de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *M. arenaria*, onde constataram que um dos isolados reduziu em 80% a multiplicação do nematoide. D'angieri e Campos (1997) estudaram o efeito *P. chlamydosporia* sobre *M. javanica* e observaram a redução da população total de 6 a 12 meses após aplicação, em plantas de Jaborandi. Viaene e Abawi (2000), avaliaram fungos nematófagos *Hirsutella rhossiliensis* (Minter & Brandy) e *Verticillium chlamydosporium*, onde ambos apresentaram potencial para redução da população *Meloidogyne hapla* em alface. Esses antagonistas reduziram a população do nematoide por meio da colonização das massas de ovos, que ficam expostas na superfície do sistema radicular das plantas, e morte do embrião ou juvenil de segundo estágio (MORGAN-JONES et al., 1983; BOURNE et al., 1996; KERRY; BOURNE, 2002; MUKHTAR; PERVAZ, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento dessa pesquisa, foram realizados três experimentos em condições de casa de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia do Núcleo de Biotecnologia Agronômica da Universidade Estadual do Maranhão-UEMA, sendo estes: 1 - Reação de Cultivares de Alface a *Meloidogyne enterolobii*; 2- Efeito do fungo *Paecilomyces lilacinus* no controle de *Meloidogyne enterolobii* na cultura da alface; 3- Efeito do fungo *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne enterolobii* na cultura da alface.

3.1 Obtenção e multiplicação de *Meloidogyne enterolobii*

A população original de *M. enterolobii* foi obtida de plantas de goiabeira (*Psidium guajava* L. ‘Paluma’) procedentes da localidade Vila Maranhão, em São Luís. Para a multiplicação do inóculo, mudas de tomateiros (*Solanum lycopersicum* L. cv. Santa Cruz ‘Kada Gigante’) foram inoculadas e mantidas em casa de vegetação por 45 dias.

Na obtenção do inóculo para os experimentos, ovos do nematoide foram extraídos pelo método de Hussey e Barker (1973) modificado por Boneti e Ferraz (1981), onde raízes com presença de galhas foram cuidadosamente lavadas, cortadas em pedaços pequenos e trituradas no liquidificador em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % por um período de 20 segundos. Em seguida verteu-se o material processado no liquidificador em peneira de 200 meshes acoplada sobre outra de 500 meshes. Descartou-se o material retido na peneira de 200 meshes, ficando somente os ovos retidos na peneira de 500 meshes, estes foram recolhidos em béquer de plástico, após lavagem em água corrente para retirar o excesso de hipocloreto de sódio. Posteriormente contou-se o número de ovos em alíquotas de 1 mL, com auxílio da câmara de contagem, sob microscópio ótico.

A suspensão de inóculo foi ajustada para 500 ovos/ml , utilizando-se uma câmara de contagem de Peter.

3.2 Produção de mudas de alface

Em condições de casa de vegetação foram produzidas as mudas de alface utilizadas nesse trabalho, sendo a semeadura realizada em bandejas de poliestireno expandido (isopor), com 72 células, contendo substrato comercial Plantmax®. O transplante para cada experimento ocorreu no período de aproximadamente de 15 a 20 dias, para vasos plásticos com capacidade de 2 L, contendo solo previamente autoclavado (120 °C por 2 h).

As plantas foram irrigadas duas vezes ao dia. A adubação foi realizada a cada 15 dias, com fertilizante líquido comercial, por meio de pulverização via foliar e / ou regas até o momento da colheita dos experimentos.

3.3 Isolamento e produção dos inóculos de *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia* em grãos de arroz

Os isolados de *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia* utilizados neste trabalho foram provenientes da coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia (UEMA). Estes foram inicialmente cultivados por um período de 20 dias em placas de Petri, em meio de cultura BDA (Batata, Dextrose, Agar) e incubado em estufa B.O.D., 25 °C ± 1, para estimular a esporulação.

Na produção de inóculo de *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia* os fungos foram cultivados em grãos de arroz. Sessenta gramas de arroz foram colocadas em erlenmeyers de 250 ml e lavados duas vezes com água de torneira, completando-se o volume dos frascos para 200 ml. Após 10 minutos de embebição do arroz o excesso de água foi descartado e os frascos foram autoclavados por 20 minutos a 120°C. Cada frasco, após atingir a temperatura ambiente, recebeu três discos de 4 mm de diâmetro da cultura fúngica em BDA, sendo colocado em estufa do tipo B.O.D. a 25°C, onde permaneceu por um período de 20 dias no escuro.

3.4 Implantação dos experimentos

3.4.1 Experimento 1 : Reação de Cultivares de Alface a *Meloidogyne enterolobii*

Nesse experimento foram utilizados 18 (dezoito) cultivares comerciais de alface recomendadas para cultivo em clima quente, sendo estas distribuídas entre os grupos do tipo americana ('Grandes Lagos', 'Angelina', 'Grandes lagos 659'); do tipo crespa 'Mônica', 'Grand rapids-TBR', 'Roxa scarlet', 'Mimosa', 'Crespa para verão', 'Isabela', 'Vanda' e 'Simpson semente preta'); do tipo lisa ('Regina de verão', 'Vitória de verão', 'Regiane' e 'Lídia'); do tipo manteiga ('Babá de verão', 'Babá de verão'-Feltrin, 'Boston Branca').

O experimento (Figura1) obedeceu a um delineamento inteiramente casualizado, com 18 tratamentos (cultivares de alface), 10 repetições, uma planta por parcela, sendo cada parcela constituída por um vaso. Para confirmação da viabilidade do inóculo foram utilizados tomateiros como testemunha suscetível.

As plantas de alface foram inoculadas distribuindo-se a suspensão de inóculo (10 ml/planta) em sulco feito ao redor do colo das plantas.

Figura 1- Experimento na casa de vegetação: A- Plantas de alface recém inoculadas; B- Plantas de alface no ponto de colheita.



Trinta dias após inoculação, as plantas foram retiradas cuidadosamente dos vasos. Após assepsia o sistema radicular e a parte aérea das plantas foram pesados, verificando-se o índice de galhas e atribuindo-se notas de acordo com a escala de Taylor e Sasser (1978), (Tabela 1).

As avaliações quanto à reação das cultivares de alface ao *Meloidogyne* foram feitas quanto ao número de ovos / sistema radicular, calculando-se o fator de reprodução (FR = população final / população inicial), onde consideraram-se como resistentes, aquelas plantas que apresentaram $FR < 1,00$; imunes, $FR = 0,00$; e suscetíveis, $FR > 1,00$, de acordo com OOSTENBRINK, (1966),(Tabela 2).

Tabela 1-Índices de galhas e de massas de ovos de *Meloidogyne* (TAYLOR; SASSER, 1978).

Índice	Número de galhas e/ou Massas de Ovos
0	0
1	1-2
2	3-10
3	11-30
4	31-100
5	>100

Tabela 2-Reação das cultivares quanto a reação a *Meloidogyne* (OOSTENBRINK, 1966).

Reação	Fator de reprodução (FR)
Resistente	$FR < 1,00$
Imune	$FR = 0,00$
Suscetível	$FR > 1,00$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa ASSISTAT®.

3.4.2 Experimento2: Efeito do fungo *Paecilomyces lilacinus* no controle de *Meloidogyne enterolobii* na cultura da alface.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2x5, composto por duas cultivares de alface, classificadas como suscetíveis no experimento anterior, cinco tratamentos diferentes com oito repetições, sendo uma planta por parcela, cada parcela constituída por um vaso, distribuídos com combinação dos fatores Cultivar (C) x Tratamentos (T), conforme os seguintes níveis:

- Cultivar:
C₁ = 'Boston Branca';
C₂ = 'Grandes Lagos 659'.
- Tratamentos:
T₁ = 5g de arroz colonizado por *P. lilacinus* + nematoide;
T₂ = 5g de arroz não colonizado + nematoide;
T₃ = 10 g de arroz colonizado por *P. lilacinus* + nematoide;
T₄ = 10 g de arroz não colonizado + nematoide;
T₅ = Cultivar suscetível + solo infestado pelo nematoide (testemunha).

Estes resultaram em dez combinações:

- C₁ T₁ = 'Boston Branca' + 5g de arroz colonizado por *P. lilacinus* + nematoide;
- C₁ T₂ = 'Boston Branca' + 5g de arroz não colonizado + nematoide;
- C₁ T₃ = 'Boston Branca' + 10 g de arroz colonizado por *P. lilacinus* + nematoide;
- C₁ T₅ = 'Boston Branca' + solo infestado pelo nematoide (testemunha);
- C₂ T₁ = 'Grandes Lagos 659' + 5g de arroz colonizado por *P. lilacinus* + nematoide;
- C₂ T₂ = 'Grandes Lagos 659' + 5g de arroz não colonizado + nematoide;
- C₂ T₃ = 'Grandes Lagos 659' + 10 g de arroz colonizado por *P. lilacinus* + nematoide;
- C₂ T₄ = 'Grandes Lagos 659' + 10 g de arroz não colonizado + nematoide;
- C₂ T₅ = 'Grandes Lagos 659' + solo infestado pelo nematoide (testemunha).

Para *P. lilacinus* utilizou-se uma concentração de inóculo de $4,3 \times 10^8$ conídios/g de arroz.

Solo previamente autoclavado (120 °C por 2 h) foram distribuídos em vasos com capacidade de 2 L e infestado com 5000 ovos de *M. enterolobii*. Em seguida 5g e 10 g de arroz sem o fungo, 5g e 10 g de arroz colonizado pelos fungos nematófagos, separadamente, foram misturados ao solo dos vasos.

Quinze dias após, uma planta de alface com 15 dias de idade foi transplantada para cada vaso. Foram utilizadas as próprias cultivares suscetíveis 'Boston branca' e 'Grandes Lagos', como testemunhas em solo infestado com 5.000 ovos *M. enterolobii*.

Após 30 dias, as plantas foram retiradas dos vasos, as raízes lavadas e em seguida os ovos foram extraídos de acordo com o método de Hussey e Barker (1973) modificado por Boneti e Ferraz (1981).

Os efeitos de *P. lilacinus* sobre *M. enterolobii* foram avaliados quanto ao número de ovos / sistema radicular, calculando-se o fator de reprodução ($FR = \text{população final} / \text{população inicial}$), onde se considerou $FR < 1,00$ controle eficiente e $FR > 1,00$ controle menos eficiente do patógeno. Os dados obtidos, quando necessário, foram transformados em \sqrt{x} e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa ASSISTAT ®.

3.4.3 Experimento3: Efeito do fungo *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne enterolobii* na cultura da alface.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2x5, composto por duas cultivares de alface, classificadas como suscetíveis no experimento anterior, e cinco tratamentos diferentes, com oito repetições, sendo uma planta por parcela, cada parcela constituída por um vaso, distribuídos com combinação dos fatores Cultivar (C) x Tratamentos (T), conforme os seguintes níveis:

- Cultivar:
 - C₁ = ‘Simpson Semente Preta’;
 - C₂ = ‘Vitória de verão’.
- Tratamentos:
 - T₁ = 5g de arroz colonizado por *P. chlamydosporia* + nematoide;
 - T₂ = 5g de arroz não colonizado + nematoide;
 - T₃ = 10 g de arroz colonizado por *P. chlamydosporia* + nematoide;
 - T₄ = 10 g de arroz não colonizado + nematoide;
 - T₅ = Cultivar suscetível + solo infestado pelo nematoide (testemunha).

Estes resultaram em dez combinações:

C₁T₁ = ‘Simpson Semente Preta’+ 5g de arroz colonizado por *P. chlamydosporia* + nematoide;

C₁T₂ = ‘Simpson Semente Preta’+ 5g de arroz não colonizado + nematoide;

C₁T₃= ‘Simpson Semente Preta’+10 g de arroz colonizado por *P. chlamydosporia* + nematoide;

C₁T₄= ‘Simpson Semente Preta’+ 10 g de arroz não colonizado + nematoide;

C₁T₅= ‘Simpson Semente Preta’+ solo infestado pelo nematoide (testemunha);

C₂ T₁ = ‘Vitória de verão’+ 5g de arroz colonizado por *P. chlamydosporia* + nematoide;

C₂ T₂ = ‘Vitória de verão’+ 5g de arroz não colonizado + nematoide;

C₂ T₃ = ‘Vitória de verão’+ 10 g de arroz colonizado por *P. chlamydosporia* + nematoide;

C₂ T₄ = ‘Vitória de verão’+ 10 g de arroz não colonizado + nematoide;

C₂ T₅ = ‘Vitória de verão’+ solo infestado pelo nematoide (testemunha).

Para *P. chlamydosporia* utilizou-se uma concentração de inóculo de 4×10^6 conídios/g de arroz.

Solo previamente autoclavado (120 °C por 2 h) foram distribuídos em vasos com capacidade de 2 L e infestado com 5000 ovos de *M. enterolobii*. Em seguida 5g e 10 g de arroz sem o fungo, 5g e 10 g de arroz colonizado pelos fungos nematófagos, separadamente, foram misturados ao solo dos vasos.

Quinze dias após, uma planta de alface com 15 dias de idade foi transplantada para cada vaso. Foram utilizadas as próprias cultivares suscetíveis ‘Simpson Semente Preta’ e ‘Vitória de verão’, como testemunhas em solo infestado com 5.000 ovos *M. enterolobii*.

Após 30 dias, as plantas foram retiradas dos vasos, as raízes lavadas e em seguida os ovos foram extraídos de acordo com o método de Hussey e Barker (1973) modificado por Boneti e Ferraz (1981).

Os efeitos de *P. chlamydosporia* sobre *M. enterolobii* foram avaliados quanto ao número de ovos / sistema radicular, calculando-se o fator de reprodução (FR = população final / população inicial), onde se considerou $FR < 1,00$ controle eficiente e $FR > 1,00$ controle menos eficiente do patógeno. Os dados obtidos, quando necessário, foram transformados em \sqrt{x} e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa ASSISTAT®.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1 : Reação de Cultivares de Alface a *Meloidogyne enterolobii*

Os resultados da reação das cultivares de alface a *Meloidogyne enterolobii* estão apresentados na Tabela 3. Das dezoito cultivares avaliadas, dez comportaram-se como resistentes ao nematoide: ‘Lídia’, ‘Crespa de Verão’, ‘Isabela’, ‘Angelina’, ‘Mônica’, ‘Vanda’, ‘Regiane’, ‘Grand rapids-TBR’, ‘Mimosa’ e ‘Babá de Verão’ (Feltrin), com fatores de reprodução menores que 1,00, variando de 0,92 a 0,15; as demais cultivares, ‘Boston Branca’, ‘Vitória de Verão’, ‘Grandes Lagos’, ‘Babá de verão’ (Isla), ‘Roxa scarlet’, ‘Simpson semente preta’, ‘Regina de verão’, ‘Grandes lagos 659’, foram consideradas suscetíveis apresentando $FR > 1,0$. Nenhum das cultivares foi imune à infecção de *M. enterolobii*.

Analisando-se a variável índice de galhas, os maiores valores foram detectados nas raízes das cultivares de alfaces suscetíveis, no entanto, observou-se que as cultivares resistentes ‘Mimosa’, ‘Grand Rapids-TRB’ e ‘Lídia’ apresentaram índice de galhas semelhantes aos das cultivares avaliadas como suscetíveis no critério de Oostenbrink (1966). Isso demonstra que galhas radiculares não é um método seguro, para diagnosticar plantas quanto à reação de resistência e suscetibilidade ao gênero *Meloidogyne*. Para Fernandes e Kulczyski ,(2009) as galhas representam na verdade, sintomas de hipertrofia e principalmente hiperplasia ocorridas no córtex em resposta à presença de toxinas injetadas pelo nematoide, não expressando a capacidade de reprodução do nematoide nas raízes.

Tabela 3-Fator de reprodução e reação de cultivares de alface ao *Meloidogyne enterolobii*.

Cultivar	Tipo ou Grupo	Origem	IG	Nºovos	FR	Reação
Tomate	-		5,0	62500 a	12,50 a	S
Boston Branca	Manteiga	Isla	4,7	22805 b	4,56 b	S
Vitória de verão	Lisa	Isla	4,5	21045 bc	4,20 bc	S
Grandes Lagos	Americana	Isla	3,7	16837 cd	3,36 cd	S
Babá de verão	Manteiga	Isla	4,8	16287 cd	3,25 cd	S
Roxa Scarlet	Crespa	Sakata	4,6	15137 d	3,02 d	S
Simpson semente preta	Crespa	Isla	4,6	14919 d	2,98 d	S
Regina de verão	Lisa	Isla	4,5	14248 d	2,84d	S
Grandes lagos 659	Americana	Feltrin	4,6	6561 e	1,31 e	S
Babá de verão	Manteiga	Feltrin	3,2	4633 ef	0,92 ef	R
Mimosa	Crespa	Isla	3,8	4482 ef	0,89 ef	R
Grand rapids-TBR	Crespa	Feltrin	3,5	3604 ef	0,72 ef	R
Regiane	Lisa	Sakata	3,0	2366 ef	0,47 ef	R
Vanda	Crespa	Sakata	3,0	1609 ef	0,32 ef	R
Mônica	Crespa	Feltrin	2,6	1500 ef	0,30 ef	R
Angelina	Americana	Sakata	2,0	1292 ef	0,25 ef	R
Isabela	Crespa	Sakata	1,7	1069 ef	0,21ef	R
Crespa para verão	Crespa	Top seed garden	1,9	991 f	0,19 f	R
Lídia	Lisa	Sakata	3,2	764 f	0,15 f	R
CV%				30,99	30,99	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. IG= índice de galhas; nº ovos=número de ovos; FR= (Pf) população final/(Pi)população inicial; Reação considerando o critério de Oostenbrink (1966): R=Resistente, I=Imune e S=Suscetível.

Com relação ao tipo e/ou grupo da alface (Tabela 3), observou-se que as cultivares do tipo crespa destacaram-se na sua maioria como uma boa fonte de resistência a *M. enterolobii*, pois das oito avaliadas pertencentes a esse grupo somente duas comportaram-se como suscetíveis. Charchar e Moita (1996), também encontraram em cultivares de alface de folha crespa (Bix, Romana Balão, Salad Bowl, Mimosa e Grand Rapids) resistência tanto a *M. incognita* como *M. javanica*, podendo reduzir consideravelmente, o potencial de inóculo dos nematóides no campo e as cultivares do tipo lisa (Vitória e Regina) como as mais suscetíveis.

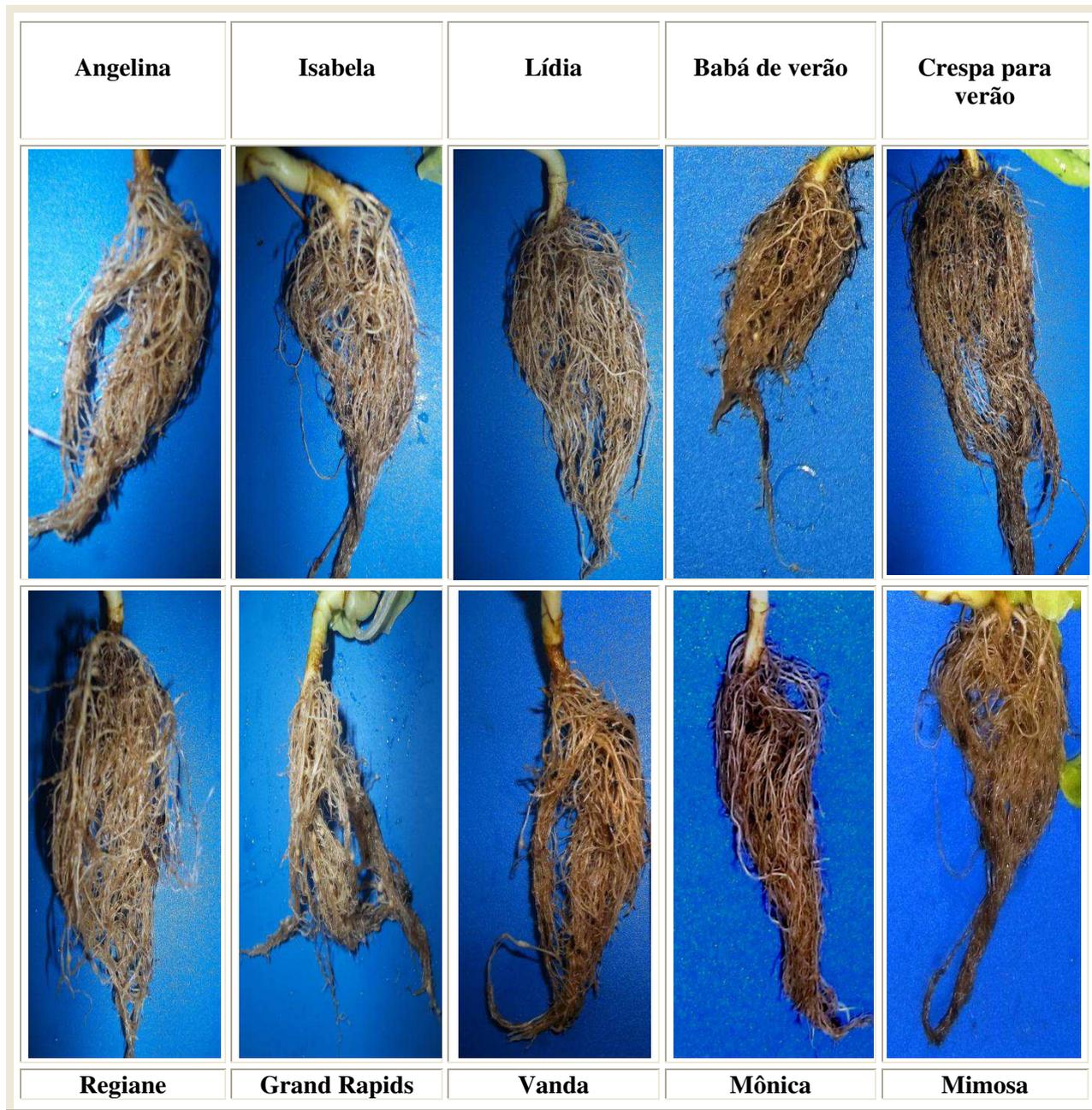
Apesar de a alface ser uma das folhosas mais consumidas no país, na literatura ainda são poucos os estudos dessa cultura em relação a resistência *M. enterolobii*. Recentemente, Melo et al (2011) em trabalho sobre triagem de genótipos de hortaliças para resistência a *M. enterolobii*, encontraram resultados semelhantes, onde em geral, a alface não se mostrou uma boa hospedeira a *M. enterolobii*, pois em todas as dez cultivares avaliadas (Elisa, Julia, Luisa, Hortência, Mirella, Vera, Verônica, Grand Rapids, Salinas 88 e Babá de Verão) apresentaram pelo menos resistência moderada ao nematoide, sendo classificadas como muito resistentes as cultivares Julia, Hortência, Verônica, Grand Rapids e Babá de Verão. Para Bitencourt e Silva (2010) a alface Mônica também foi considerada resistente a *M. enterolobii*.

A cultivar Grand Rapids TBR também apresenta resistência a *M. incognita* (Gomes, 1999). Para este autor o controle genético decorrente do efeito da ação de um único loco gênico (este alelo foi denominado *Me*), com efeito aditivo e herdabilidade relativamente alta. Esta cultivar também apresentou resistência a *M. javanica* (MALUF et al., 2002) e na infecção de população mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* no campo (CHARCHAR; MOITA, 2005), já a cultivar ‘Vitória de Verão’ nesse mesmo trabalho, foi considerada moderada suscetível. Embora a alface ‘Grandes Lagos 659’ sendo classificada como suscetível conforme escala Oostenbrink (1966), pode-se verificar que estatisticamente não diferiu da maioria das cultivares consideradas resistentes.

A Figura 2, apresenta os sistemas radiculares das cultivares de alface consideradas resistentes ao nematoide, verificou-se poucas galhas, sintoma característico de infecção de *Meloidogyne*. Isso pode ser explicado, pois mecanismos de defesas são ativados no processo de infecção da planta e o nematoide, primeiramente ocorre o reconhecimento do nematoide (elicitador) por células das plantas (receptor), sinais de hipersensibilidade são emitidos pela planta, envolvendo ativação de genes, síntese de m-RNA e transcrição de DNA, modificações bioquímicas ocorrem nos tecidos das plantas, impedindo, por exemplo, o desenvolvimento normal dos sítios de alimentação, que se degeneram (SILVA, 2001).

A resistência genética é determinada quando a planta inibe a reprodução do nematoide em comparação com os genótipos suscetíveis, ou seja, aqueles que permitem a sua reprodução e a expressão da doença (TRUDGILL, 1991).

Figura 2- Sistema radicular das cultivares de alface resistente ao *Meloidogyne enterolobii*.



As cultivares de alface classificados como suscetíveis ao *M. enterolobii* de acordo com critério de Oostenbrink (1966), apresentaram nas raízes um grande número de galhas (Figura 3), esse sintoma mostra que o parasitismo foi bem sucedido, tendo em vista que este depende muito da formação do sítio de alimentação (VAN DER EYCHER et al., 1996).

Figura 3- Sistema radicular (natural e coradas com fucsina ácida) das cultivares de alface suscetíveis ao *Meloidogyne enterolobii*.



Os maiores pesos de parte aérea (g) foram encontrados nas cultivares de alface diagnosticadas como resistentes a *Meloidogyne* conforme critério de Oostenbrink (1966). Com exceções da cultivar ‘Roxa Scarlet’ que, embora seja suscetível, apresentou o segundo maior peso da parte aérea (g) e o maior peso do sistema radicular em relação às demais cultivares e a cultivar ‘Mônica’, que apesar de ser considerada resistente o seu peso da parte aérea e do sistema radicular está entre os menores encontrados, se igualando estatisticamente aos cultivares suscetíveis, conforme Tabela 4.

Tabela 4- Peso fresco (g) da parte aérea e do sistema radicular de cultivares de alface, inoculadas com *M. enterolobii*.

Cultivar	Peso Fresco(g)	
	Parte aérea	Sistema radicular
Angelina	42,08 a	4,29 bc
Roxa Scarlet	37,05 ab	6,39 a
Vanda	35,01 abc	2,00 ef
Isabela	34,93 abc	2,74 cdef
Lídia	32,90 bcd	3,18 cde
Regiane	31,27 bcde	4,10 bcd
Crespa para verão	28,49 bcde	3,64 bcde
Mimosa	25,86 cdef	2,69cdef
Babá de verão (Feltrin)	25,64 def	2,30 def
Grand rapids-TBR	22,75 efg	3,38 bcde
Vitória de verão	22,32 efgh	5,05 ab
Mônica	18,72 fg hi	2,28 def
Boston Branca	17,92 fg hi	2,59 cdef
Simpson semente preta	14,95 ghi	1,93 ef
Grandes lagos 659	13,17 hi	1,24 f
Regina de verão	13,15 hi	2,11 ef
Grandes Lagos	12,19 i	1,15 f
Babá de verão	11,52 i	2,45 cdef
CV%	23,72	39,77

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Experimento 2: Efeito do fungo *Paecilomyces lilacinus* no controle de *Meloidogyne enterolobii* na cultura da alface.

Houve interação entre os fatores cultivar x tratamentos, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, que mostram os efeitos de *P.lilacinus* sobre *M. enterolobii* nas cultivares ‘Boston Branca’ e ‘Grandes Lagos’, onde se observou que os tratamentos com a presença do fungo reduziram a população do nematoide para fatores de reprodução menores que 1. Isso é explicado pelo fato de que *P. lilacinus* caracterizar-se por penetrar nos ovos dos nematoides, destruindo o embrião, exercendo forte pressão na capacidade reprodutiva das fêmeas que são colonizadas e posteriormente mortas (DUNN et al., 1982). Esse fungo do solo tem se mostrado efetivo no biocontrole de outras espécies de *Meloidogyne* (KERRY, 1990).

Não houve diferença estatística entre os tratamentos de 5g e 10 g de arroz não colonizados + nematoide em relação à testemunha infestada para as duas cultivares isoladamente.

Tabela 5-Efeito de *P. lilacinus* veiculado em arroz sobre *M. enterolobii* nas cultivares ‘Boston Branca’ e ‘Grandes Lagos 659’.

Tratamento	Fator de reprodução	
	Boston Branca	Grandes Lagos
5g de arroz colonizado com <i>P. lilacinus</i> + nematóide	0,73 aB	0,31 bB
5g de arroz não colonizado+ nematóide	2,10 aA	1,83 bA
10g de arroz colonizado com <i>P. lilacinus</i> + nematóide	0,17 aC	0,26 bB
10g de arroz não colonizado+ nematóide	2,10 aA	1,83 bA
Testemunha infestada	2,22 aA	1,93 aA
CV%	15,02	

Os dados do FR (fator de reprodução) foram transformados pela equação $x = \sqrt{x}$, e em seguida submetidos à análise de variância. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando separadamente os efeitos dos tratamentos nas cultivares suscetíveis, observou-se para a alface ‘Boston Branca’ que a ação do *P. lilacinus* no controle do nematoide, foi proporcional a quantidade de gramas de arroz colonizado, sendo assim, o tratamento de 10 g, foi mais eficiente, pois apresentou um valor de 0,17 de fator de reprodução. Já a cultivar ‘Grande Lagos’, embora os tratamentos tenham tido o efeito na redução populacional do nematoide, os tratamentos de 5 e 10 gramas de arroz colonizado com

P. lilacinus não diferiram estatisticamente entre si, tendo assim o mesmo efeito no controle do nematoide.

Comparando-se os resultados das duas cultivares sobre o efeito da ação do *P. lilacinus* sobre *M. enterolobii*, observou-se que o comportamento das cultivares são semelhantes, pois houve redução nos valores do fator de reprodução em relação as testemunhas com os respectivos tratamentos, embora na cultivar ‘Grandes Lagos’ não houve diferença estatística entre os tratamentos de 5g e 10 g de arroz colonizado com fungo e o tratamento de 5 g de arroz colonizado com *P. lilacinus* para a cultivar ‘Boston Branca’.

Devido ao fato de que *P. lilacinus* é um fungo saprófita, este pode ser utilizado em vários substratos presentes no solo e substratos para produção de mudas (PEREIRA, 2008), isso foi confirmado pelo autor, em trabalho com mudas de tomateiro em substrato infestado com *P. lilacinus* veiculado em arroz, que mostrou-se eficiente na supressão de *M. incognita* raça 2. Resultado semelhante foi encontrado por Freitas et al.,(1999), onde *P. lilacinus*, crescido em arroz, misturado ao substrato na produção de mudas de tomateiro contra o parasitismo de *M. javanica*, reduziu o número de galhas por grama de raiz e por sistema radicular, respectivamente, em 61,1% e 55,8%. Santiago et al., (2006), também utilizaram grãos de arroz autoclavado e colonizado por *P. lilacinus* para controlar *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro cv “Santa Clara”, onde todos os isolados reduziram a população do *Meloidogyne*. Machado et al., (2010), também avaliaram o efeito da aplicação de *P. lilacinus* e esterco bovino na redução populacional de *Meloidogyne incognita* em tomateiro e alface, obtendo como resultado um aumento na biomassa da parte aérea e das raízes das duas olerícolas, só houve redução no número de galhas e de ovos do nematoide na cultura do tomateiro e nenhum tratamento reduziu o número de galhas para a cultura da alface.

Ao se comparar os efeitos dos tratamentos com o arroz colonizados com *P. lilacinus* em relação aos tratamentos sem a presença do fungo, percebeu-se a ação do antagonista no controle do *M. enterolobii*.

4.3 Experimento 3: Efeito do fungo *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne enterolobii* na cultura da alface.

Houve interação entre os fatores ‘Cultivar’ e ‘Tratamentos’, logo o comportamento das cultivares ‘Simpson Semente Preta’ e ‘Vitória de Verão’ em relação à reprodução do nematóide foi influenciado pelos tratamentos recebidos.

Sobre o efeito de *P. chlamydosporia* sobre *M. enterolobii* nas cultivares ‘Simpson Semente Preta’ e ‘Vitória de Verão’, apresentados na Tabela 6, observou-se que no tratamento de 5 g de arroz colonizado *P. chlamydosporia*+ nematóide, houve redução populacional do *Meloidogyne* para as duas cultivares, porém não foi o suficiente para realizar o controle do patógeno para a cultivar ‘Simpson Semente Preta’, pois o seu fator de reprodução continuou maior que 1, diferentemente do que aconteceu com a ‘Vitória de Verão’ onde, nessa mesma dosagem obteve-se uma eficiente supressão sobre a população do *Meloidogyne*, apresentando um fator de reprodução de 0,62.

Tabela 6- Efeito de *P. chlamydosporia* veiculado em arroz, sobre *M. enterolobii* nas cultivares ‘Simpson Semente preta’ e ‘Vitória de Verão’.

Tratamento	Fator de reprodução	
	Simpson Semente Preta	Vitória de Verão
5g de arroz colonizado com <i>P. chlamydosporia</i> + nematóide	1,06 aC	0,62 bB
5g de arroz não colonizado+ nematóide	1,72aA	1,43bA
10g de arroz colonizado com <i>P. chlamydosporia</i> + nematóide	0,94aC	0,34 bC
10g de arroz não colonizado+ nematóide	1,31 aB	1,43aA
Testemunha infestada	1,26 bB	1,54 aA
CV%	10,09	

Os dados do FR (fator de reprodução) foram transformados pela equação $x = \sqrt{x}$, e em seguida submetidos à análise de variância. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. FR= (Pf) população final/(Pi)população inicial.

Observou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos de 5g e 10g de arroz colonizado com *P. chlamydosporia* sobre os fatores de reprodução do *M. enterolobii* nas cultivares ‘Simpson Semente Preta’, embora, o tratamento de 10g de arroz colonizado com *P. chlamydosporia* tenha sido eficiente na redução do fator de reprodução para 0,94, isto menor que 1. Já para a cultivar ‘Vitória de Verão’, os tratamentos com 5g e 10 g de arroz colonizados com *P. chlamydosporia* mostraram-se eficientes na supressão do nematoide,

apresentando fatores de reprodução menor que 1, com melhor eficiência no tratamento de 10g de arroz colonizado, apresentado o fator de reprodução igual a 0,34.

No tratamento com 5g de arroz não colonizado+ nematoide , não houve redução no fator de reprodução do patógeno, bem como o tratamento de 10g de arroz não colonizado+ nematóide para ambas as cultivares avaliadas, o que sugere-se que o arroz por si só não tem efeito significativo sobre a supressão do *Meloidogyne*. Não havendo diferença estatística entre os tratamentos de 10g de arroz não colonizado+ nematóide com testemunha infestada, para a cultivar ‘Simpson Semente Preta’, também não houve diferença estatística para ‘Vitória de Verão’ entre os tratamentos de 5g de arroz não colonizado + nematóide, 10g de arroz não colonizado+ nematóide com a testemunha infestada.

Na dosagem de 10 g do arroz com o fungo nematófago para as duas cultivares obteve-se um controle eficiente com os fatores de reprodução que variaram de 0,94 para ‘Simpson Semente Preta’ e 0,34 ‘Vitória de Verão’.

Ao se comparar os efeitos dos tratamentos com o arroz colonizados com *P. chlamydosporia* em relação aos tratamentos sem a presença do fungo, percebe-se a ação do antagonista no controle do *M. enterolobii*, pelo fato de *P. chlamydosporia* provocar desordens fisiológicas nos ovos, interrupção no desenvolvimento embriogênico (DACKMAN *et al.*, 1989). Esses resultados concordam com outros trabalhos, Coutinho *et al.* (2009), utilizaram *P. chlamydosporia* na cultura de tomate, este reduziu o número de ovos entre 56 e 61% e o número de galhas entre 36 e 47% de *Meloidogyne* spp. Dias-Arieira *et al.* (2011), avaliaram a eficácia do isolado Pc-10 do fungo *P. chlamydosporia* em *Meloidogyne incognita* no controle, em duas áreas de produção de alface, onde este reduziu o número de ovos em uma das áreas experimentais e na outra área, os tratamentos reduziram o população final de J2 no solo. Verdejo-Lucas *et al.* (2003), utilizaram *P. chlamydosporia* no controle de *M. javanica* em alface e plantas de tomate. Arévalo *et al.* (2012), usando *P. chlamydosporia* visando o controle de *M. enterolobii* em hortaliças, obtiveram bons resultados na redução do número de ovos desse nematóide em casa de vegetação. Carneiro *et al.*, (2011), também utilizaram *P. chlamydosporia* em plantas de goiabeira atacadas por *M. enterolobii*, observaram redução do nematoide, porém não foi suficiente para minimizar o número de galhas, o que reforça a importância de realizar pesquisas sobre controle alternativo do *M. enterolobii*.

5 CONCLUSÕES

- As Cultivares de alface ‘Lídia’, ‘Crespa de Verão’, ‘Isabela’, ‘Angelina’, ‘Mônica’, ‘Vanda’, ‘Regiane’, ‘Grand rapids-TBR’, ‘Mimosa’ e ‘Babá de Verão’ (Feltrin); comportaram-se como resistentes a *Meloidogyne enterolobii*;
- Foram consideradas suscetíveis a *Meloidogyne enterolobii* as cultivares ‘Boston Branca’, ‘Vitória de Verão’, ‘Grandes Lagos’, ‘Babá de verão’ (Isla), ‘Roxa scarlet’, ‘Simpson semente preta’, ‘Regina de verão’, ‘Grandes Lagos 659’.
- *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia*, mostraram-se eficientes na redução da população de *Meloidogyne enterolobii* quando veiculados em grãos de arroz e incorporados ao substrato.

6 REFERÊNCIAS

APN- Associação Portuguesa dos Nutricionistas. **As propriedades da alface**. 2010. Disponível em:< <http://www.protegeoqueebom.pt/2010/02/18/as-propriedades-da-alface/> >. Acesso em: 06 de mar. 2013.

ARÉVALO, J.; SILVA, S.D.; CARNEIRO, M.D.G.; LOPES, R.B.; CARNEIRO R.M.D.G.; TIGANO, M.S. ; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams como potencial agente de control biológico de *Meloidogyne enterolobii* (Yang y Eisenback) en cultivos hortícolas. **Rev. Protección Veg.** V. 27, n. 2, p. 123-129, 2012.

BARRON, G. L. **The nematode-destroying fungi**. Ontario: Canadian Biological Publications, Canadá, 1977.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: MICHEREFF, Sami Jorg ; BARROS, Reginaldo (Ed). **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2001.

BITENCOURT, N.V.; SILVA, G.S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em Olerícolas. **Nematologia Brasileira**, V.34, n.3, p.181-183,2010.

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

BONETTI, J.I.S.; S. FERRAZ. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, V.6, n.3, p 553. 1981.

BOURNE, J.M., B.R. KERRY ; F.A.A.M. DE LEIJ. The importance of the host plant on the interaction between root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard. **Biocontrol Science and Technology**, V.6, p. 539-548, 1996.

BOURNE, J.M.; KERRY, B.R.; GALLOWAY, J.; SMITH, C.; MARCHESE, G. Evaluation of application techniques and materials for the production of *Verticillium chlamydosporium* in experiments to control root-knot nematodes in glasshouse and field trials. **International Journal of Nematology**, College Park, v.9, n.2, p.153-162, 1999.

BRITO, J.; PORWERS, T. O.; MULLIN, P. G.; INSERRA, R. N.; DICKSON, D.W. Morphological and molecular characterization of *Meloidogyne enterolobii* from Florida. **Journal of Nematology**, V.36, n. 3, p. 232 - 240,2004.

CARNEIRO, R.M.D.G.; HIDALGO-DÍAZ, L.; MARTINS, I.; SILVA, K.F.A.S; SOUZA, M.G. & TIGANO, M.S.. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on guava (*Psidium guajava* L.) plants. **Nematology**. V.13, n.6, p.721-728, 2011.

CARNEIRO, R. M. D. G. , W. A. MOREIRA, ALMEIDA, & A. C. M. .M. GOMES.Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, V.25 n. 2, p. 223-228, 2001.

CHARCHAR, J.M; MOITA, A. W. **Metodologia para seleção de hortaliças com resistência a nematóides: Alface/*Meloidogyne* spp.** Comunicado Técnico N°27, Brasília, DF, Dezembro,2005.

CHARCHAR, J.M. Comportamento de cultivares de alface à infecção por nematoides de galhas.Horticultura Brasileira 9:35 (Resumos),1991.

CHARCHAR, J.M. ***Meloidogyne* em hortaliças.** In: congresso internacional de nematologia tropical, 1., Congresso Brasileiro de Nematologia, 19. Rio Quente. Resumos. v.1, n.1, p.149-153, 1995.

CHARCHAR,J.M; MOITA, A.W. Reação de cultivares de alface à infecção por mistura populacional de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, v.14, n.2, p.185-189, 1996.

CHEN, Z. X.;DICKSON,D.W. **Biological control of nematodes by fungal antagonists.**In: CHEN, Z. X.;DICKSON,D.W.(Eds). Nematology-nematode management and utilization. CABI Publishing, 2004.

CHITWOOD, B.G. **“Root-knot nematodes” - Part I.** A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, v.16, n.2, p.90-104. 1887, 1949.

COOK, R.; EVANS, K. **Resistance and tolerance.** In: Brown, R.H.;Kerry, B.R. (eds).Principles and practice of nematode control in crops.Sydney: Acad. Press.p. 179-231, 1987.

COSTA, C. P. da; SALA, F. C. A evolução da alfaccultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 1, 2005.

COUTINHO, M.M.; FREITAS, L.G.; DALLEMORE-GIARETTA, R.; NEVES, W.S.; LOPES, E.A. & FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, V. 33, n.2, p.169-175, 2009.

DACKMAN, C.; CHET, I. & NORDBRING-HERTZ, B. Fungal parasitism of the cyst nematode *Heterodera schachtii*: infection and enzymatic activity. **Microbiology Ecology**. V.62, p. 201-208, 1989.

D'ANGIERI, C. N. F.; CAMPOS, V.P. Controle de *Meloidogyne javanica* em Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) com *Arthrobotrus conoides*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*. **Nematologia Brasileira**, v.21, n.2, p.23-30, 1997.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G. de ; CAIXETA, L. de B.; XAVIER , D. M.; FERRAZ, S.; FABRY , C. de F. S. Produção de Clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* em diferentes substratos. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 35, n. 2, p. 314-321, mar./abr., 2011.

DIAS-ARIEIRA, Cláudia R.; SANTANA, Simone de M.; FREITAS, Leandro G. de; CUNHA, Tatiana P. L. da; BIELA, Fábio; PUERARI, Heriksen H.; CHIAMOLERA, Fernando M. Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Vol.9 (3&4), July-October 2011.

DUNN, M. T.; SAYRE, M. R.; CARREL, A.; WERGIN, P. Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson as observed with scanning electron microscope. **Scanning Electron Microscopy**, p.1351-1357, 1982.

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization. **Report of a Pest Risk Analysis for: *Meloidogyne enterolobii***. Paris,2009.

FERNANDES, A. M.; KULCZYNSKI. Reações de cultivares de alface a *Meloidogyne incognita*. **Agrarian**, V. 2, nº 3, p. 143-148, 2009.

FERRAZ, L. C. C. B. Métodos alternativos de controle de nematoides. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 172, p. 24, 1992.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G; LOPES, E. A.; DIAS-ARIETA, C.R. **Manejo sustentável de fitonematóides**. Viçosa, MG: UFV, 2010.

FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. Controle biológico de fitonematoides pelo uso de fungos. **Rev. An. Patol. Planta**, V.3, p. 283-314, 1995.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2ª Edição. Viçosa. MG: Ed. UFV, 2005.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3ª Edição revisada e ampliada. Viçosa, MG: UFV, 2007.

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

FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; LIBÂNIO, R.A.; MALUF, W.R.; CAMPOS, V.P.; LICURSI, V.; MORETTO, P.; SOUZA, L.A. de; FIORINI, I.V.A. Identificação de famílias F2:3 de alface homozigotas resistentes aos nematóides-das-galhas. **Horticultura Brasileira**, v.25, p.509-513, 2007.

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

FREITAS, L.G.; FERRAZ, S.; ALMEIDA, A. M.S. Controle de *Meloidogyne javanica* em Tomateiro pela Produção de Mudas em Substrato Infestado com *Paecilomyces lilacinus*. **Nematologia Brasileira**, Jaboticabal, v.23, n.1, p.65-73, 1999.

GOMES LAA. **Herança da resistência da alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Grand Rapids ao nematóide de galhas *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**. 70p. (Tese doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

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

HENZ, Gilmar Paulo; SUINAGA Fábio. **Tipos de Alface Cultivados no Brasil**. Embrapa Hortaliças: Comunicado técnico 75. Brasília, DF, 2009.

HORTIBRASIL- Instituto Brasileiro de Qualidade em Horticultura. **As famílias botânicas das hortaliças folhosas**. Escrito por colaboradores em 28 de Agosto de 2010. Disponível em:<http://www.hortibrasil.org.br/jnw/index.php?option=com_content&view=article&id=892:as-familias-botanicas-das-hortalicas-folhosas&catid=64:frutas-e-hortalicas-frescas&Itemid=82>. Acesso: Fev. 2013.

HUSSEY RS; BARKER KR. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter** **57**, p.1025-1028,1973.

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

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

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

KARSSSEN, Gerrit; GAAG, Dirk Jan van der; LAMMERS, Wiebe. Pest Risk Assessment *Meloidogyne enterolobii*. **Plant Protection Service**, 2008.

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

KERRY, B.R. An assessment of progress toward microbial control of plant parasitic nematode. **Journal of Nematology**, v. 22, n.45, p.621-631, 1990.

KERRY, B.R.; BOURNE, J.M. **A manual for research on *Verticillium chlamyosporium*, a potencial biological control agent for root-knot nematodes**. [S.l.]: IOBC; OILB; WPRS/SROP,84p, 2002.

KOFOID, C.A.; WHITE, A.W. **A new nematode infection of man**. Journal of the American Medical Association, v.72, n.8, p.567-569, 1919.

LEIJ, F.A.A.M.; KERRY.B.R. The nematophagous fungus *Verticillium chlamyosporium* as potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. **Revue Nématologie**, v.14, n.1, p.157-164, 1991.

MACHADO, J.C., B.S. VIEIRA, E.A; LOPES & E.J. CANEDO. *Paecilomyces lilacinus* e esterco bovino para o controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro e alface. **Nematologia Brasileira**, Vol. 34(4): (231 –235), 2010.

MALUF, W.R.; AZEVEDO, S.M.; GOMES, L.A.A.; OLIVEIRA, A.C.B. de. Inheritance of resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in lettuce. **Genetics and Molecular Research**, v.1, p.64-71, 2002.

MARTONI, M. E.; VARGAS, P. F.; MORAES, T. G. de; CALIXTO, A. B.; AZEVEDO, S. M. de; FREITAS, J. A. de.B. Identificação de cultivares de alface tolerantes a *Meloidogyne* spp. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, jul. 2003.

MELO, O.D. de MALUF, W.R. GONÇALVES, R.J. DE S. GONÇALVES NETO, A.C. GOMES, L.A.A. CARVALHO, R. de C. Triagem de genótipos de hortaliças para resistência a *Meloidogyne enterolobii*. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.46, n.8, p.829-835, ago. 2011.

MENDES, W.P. **Hospedabilidade e resistência de cultivares de alface (*Lactuca sativa* L) aos nematoides das galhas *Meloidogyne incognita* (raças 1,3 e 4) e *Meloidogyne javanica*.** (Tese de doutorado).Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1998.

MORGAN-JONES, G., J.F. WHITE ; R. RODRIGUEZ KÁBANA. Phytonematode pathology: Ultrastructural studies. I. Parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs by *Verticillium chlamydosporium*. **Nematropica**, 13 (2): 245-260, 1983.

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

MURAYAMA, Shizuto. **Horticultura**. 2 ed. Campinas, SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1983.

NEVES, W. dos S.; GIARETTA, R. D. ; LOPES ,E. A.; PARREIRA , D. F.; FARIA ,C. M. R. D. **Nematoides na cultura da alface: sintomas, disseminação e principais métodos de controle.** Circular Técnica nº125, EPAMIG, MG, 2011.

NOVARETTI, W. R. T. **Controle biológico de nematóides fitopatogênicos.** In: Reunião Sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas. Campinas. **Anais...** Piracicaba: Fundação Cargill, 1986. p. 24-38,1986.

OOSTENBRINK, M. **Major characteristics of the relation between nematodes and plants.** Med. Landbouwhogeschool, Wageningen, 1966.

PEREIRA, A. L. **Táticas para manejo integrado de *Meloidogyne incognita* em tomateiro.** (Dissertação de Mestrado) Curso de Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão. São Luís, 2008.

PERRY, R. N; MOENS, M.; STAR, J.L. **Root-knot nematodes.** Cabi Wallingford, 2009.

PIMENTA, C.A.M.; CARNEIRO, R.M.D.G. Controle de *Meloidogyne javanica* por *Pasteuria penetrans* na cultura da alface: primeiro ensaio. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.1, p. 67-75, dez. 2002.

RESENDE, Francisco Vilela, et al. **Cultivo de Alface em Sistema Orgânico de Produção** Embrapa Hortaliças: Comunicado técnico 56. Brasília, DF, 2007.

ROBERTS, P.A. **Concepts and consequences of resistance.**In: STARR,J.L.; COOK, R.; BRIDGE,J. (E.ds.).Plant Restence to parasitic nematodes.Wallingford: CAB International, 2002.

SALA, F. C; COSTA, C, P. da. Retrospectiva e tendências da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira** Vol.30, nº 2: 187-194, 2012.

SALGADO, S.M.L; RESENDE,M. L.V; VICENTE, P. CAMPOS, V.P. Reprodução de *Meloidogyne exigua* em cultivares de cafeeiros resistentes e suscetíveis.**Fitopatologia Brasileira**, V.30, n.4, p.413-415, 2005.

SANTIAGO, D. C.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F. V.; RIBEIRO, E. R.; GOMES, B. C.; SANTORO, P. H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n.4, p. 1055-1064, jul-ago, 2006.

SANTOS, HS. **Efeito de sistemas de manejo do solo e métodos de propagação de alface (*Lactuca sativa* L.) em abrigo com solo naturalmente infestado com *Meloidogyne javanica*.**(Tese de doutorado).Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1995.

SANTOS, R.H.S. **Crescimento, produção e qualidade da alface (*Lactuca sativa* L.) cultivadas em composto orgânico.** Dissertação de Mestrado.Viçosa, MG, UFV, 1993.

SBN- Sociedade Brasileira de Nematologia. *Meloidogyne enterolobii*. Disponível em :<<http://nematologia.com.br> > Acesso : 23 de Dez. 2012.

SBN- Sociedade Brasileira de Nematologia. **Nematoides e Ciclo de vida**. Disponível em :<<http://nematologia.com.br> >Acesso: 20 de Dez. 2011.

SEBRAE/MA- Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas do Maranhão. **Diagnóstico de Horticultura no Maranhão**. 2009.

SILVA, G. S. **Métodos alternativos de controle de fitonematoides**. In: LUZ, C. W. (Ed). RAPP- Vol.19, p. 81-152,2011.

SILVA, J.F.V. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina, PR: EMBRAPA Soja-Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001.

SOARES, P.L.M.; NOZAKI, M.H.; SANTOS, J.M. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* em tomateiro utilizando fungos nematófagos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 1, p. 81, jan./mar. 2004.

STIRLING, G.R. **Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospects**. Wallingford: CAB International, 1991.

TAYLOR, A.L.;J.N. SASSER. **Biology, Identification, and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* Species)**. Department of Plant Pathology – North Carolina State University Graphics, Raleigh, 111 p, 1978.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993.

TRUDGILL, D. L. Resistance and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, p. 167-92, 1991.

VAN DER EYCHEN, W.; DE ALMEIDA, J.; INZE, D.; VAN MONTAGU, M.; GHEYSEN, G. **A molecular study of root-knot nematode- induced feeding sites**. *Plant Journal*, V.9, n.1, p.45-54, 1996.

VERDEJO-LUCAS, S.; F.J. SORRIBAS; C. ORNAT; GALEANO. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. **Plant Pathology**, V.52, p.521-528, 2003.

VIAENE, N.M; ABAWI, G. S. *Hirsutella rhossiliensis* e *Verticillium chlamydosporium* as biocontrol agents of the root-knot nematode de *Meloidogyne hapla* on lettuce. **Journal of nematology**, v.32, n1, p.85-100, 2000.

VIERA, A.A. R. **Resistência em genótipos segregantes de *Psidium guajava* L. a *Meloidogyne enterolobii***. Dissertação, UFES, Alegre-ES, 2011.

VILLANUEVA, L. M.; DAVIDE, R. G. Effects of fungicides, nematicidas and herbicides on the growth of nematophagous fungi *Paecilomyces lilacinus* and *Arthrobotrys cladodes*. **Phil. Phytopathology**, v. 19, p. 24-27, 1983.

WILCKEN, S.R.S; M.J.D.M.GARCIA & N. da SILVA. Resistência da alface tipo americana *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Brasileira**, Vol.29(2):267-271, 2005.