

**VANESSA SABIONI DE ALMEIDA**

**COMPATIBILIDADE DE *Pochonia chlamydosporia* COM  
FERTILIZANTE ORGANOMINERAL NO MANEJO DE  
*Meloidogyne javanica* EM ALFACE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

A447c  
2013

Almeida, Vanessa Sabioni de, 1987-

Compatibilidade de *Pochonia chlamydosporia* com  
fertilizante organomineral no manejo de *Meloidogyne javanica*  
em alface / Vanessa Sabioni de Almeida. – Viçosa, MG, 2013.  
xi, 47f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Silamar Ferraz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Nematoda - Controle biológico. 2. *Pochonia*  
*chlamydosporia*. 3. Adubos e fertilizantes.  
4. Nematóide-das-galhas. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Fitopatologia. Programa de Pós-Graduação em  
Fitopatologia. II. Título.

CDD 22 ed. 632.6257

**VANESSA SABIONI DE ALMEIDA**

**COMPATIBILIDADE DE *Pochonia chlamydosporia* COM  
FERTILIZANTE ORGANOMINERAL NO MANEJO DE  
*Meloidogyne javanica* EM ALFACE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2013.

---

Leandro Grassi de Freitas

---

Rosângela Dallemole Giaretta

---

Fabício Ávila Rodrigues

---

Silamar Ferraz  
(Orientador)

*A sua irritação não solucionará problema algum...  
As suas contrariedades não alteram a natureza das coisas...  
Os seus desapontamentos não fazem o trabalho que só o tempo conseguirá realizar.  
O seu mau humor não modifica a vida...  
A sua dor não impedirá que o sol brilhe amanhã sobre os bons e os maus...  
A sua tristeza não iluminará os caminhos...  
O seu desânimo não edificará ninguém...  
As suas lágrimas não substituem o suor que você deve verter em benefício da sua  
própria felicidade...  
As suas reclamações, ainda mesmo afetivas, jamais acrescentarão nos outros um só  
grama de simpatia por você...  
Não estrague o seu dia.  
Aprenda a sabedoria divina,  
A desculpar infinitamente, construindo e reconstruindo sempre...  
Para o infinito bem!*

(Chico Xavier)

A Deus, pela força maior,  
Aos meus pais Teófilo e Norma,  
Ao meu irmão Teófilo,  
Ao meu avô Oswaldo,  
Aos meus padrinhos Jomar e Elizabeth,  
Aos meus amigos,  
**Dedico!!!**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, por me ajudar a superar todas as adversidades e por ter colocado em meu caminho pessoas de bom coração.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realizar este Curso de Mestrado.

Aos professores Leandro Grassi de Freitas, Silamar Ferraz e Fabrício Ávila Rodrigues, pela orientação, vastos ensinamentos transmitidos, pelo respeito e paciência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa durante o período da pós-graduação.

Aos meus amigos do Laboratório de Controle biológico de Nematoides pelo companheirismo e amizade.

Ao Doutor Paulo Afonso Ferreira, pelos ensinamentos transmitidos durante a elaboração deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Interação Planta - Patógeno, em especial o Wiler, Jonas, e Daniel, por terem me ajudado com a estatística deste trabalho.

Aos meus amigos André, Maria, Dany, Sara, Carlos e Silvia, pela amizade, companheirismo, compreensão e apoio.

Aos meus pais Teófilo e Norma, pelo amor, exemplo, dedicação e incentivo durante todos os momentos de minha vida.

Ao meu irmão Theófilo, pelo apoio e exemplo, mesmo que distante.

Aos meus tios Serginho e Beth, pelas conversas nos momentos mais difíceis.

À minha família, pelo apoio e, em especial às minhas avós “in memoriam”, Vó Lindaura e Vó Pequena, por terem sido exemplos de vida.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram por mais esta conquista em minha vida.

**MUITO OBRIGADA!**

## **BIOGRAFIA**

VANESSA SABIONI DE ALMEIDA, filha de Teófilo Antônio Balbino de Almeida e Norma Sueli Sabioni de Almeida, nasceu em 29 de maio de 1987, em Ubá, Estado de Minas Gerais.

Em 2005, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). No período entre 2006 a 2009 foi bolsista de Iniciação científica no Departamento de Fitopatologia, atuando no controle biológico de fitonematoides, sob a orientação do Professor Leandro Grassi de Freitas.

Em março de 2011 iniciou o curso de Mestrado em Fitopatologia na UFV, sob a orientação do Professor Silamar Ferraz, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2013.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO I.....	1
A cultura da alface.....	1
Os fitonematoides.....	3
Fitonematoides na alface.....	4
Adubação orgânica para o manejo de fitonematoides.....	5
Fertilizantes organominerais: Conceito e importância.....	6
Fertilizante organomineral com atividade nematicida (UFV-TM100).....	7
Controle biológico de fitonematoides.....	8
<i>Pochonia chlamydosporia</i> como agente de controle biológico de fitonematoides.....	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
CAPÍTULO II.....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	23
INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
Preparo do substrato.....	27
Preparo das mudas de alface.....	27
Obtenção do fungo <i>Pochonia chlamydosporia</i> e do fertilizante organomineral (UFV-TM100).....	27
Estudo da viabilidade de <i>P. chlamydosporia</i> nos produtos Rizomax e UFV-TM100, com adição de água.....	28
Estudo da viabilidade de <i>P. chlamydosporia</i> nos produtos Rizomax e UFV-TM100, sem adição de água.....	28
Estudo da colonização do substrato por <i>P. chlamydosporia</i> .....	29
Efeito de doses do Rizomax nas variáveis de crescimento da alface e no desenvolvimento de <i>M. javanica</i> .....	29
RESULTADOS.....	31
Estudo da viabilidade de <i>P. chlamydosporia</i> nos produtos Rizomax e UFV-TM100, com adição de água.....	31

Estudo da viabilidade de <i>P. chlamydosporia</i> nos produtos Rizomax e UFV-TM100, sem adição de água. ....	31
Colonização do substrato por <i>P. chlamydosporia</i> . ....	31
Efeito de doses do Rizomax no crescimento da alface e no desenvolvimento de <i>M. javanica</i> .....	31
DISCUSSÃO .....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	37
CONCLUSÕES GERAIS.....	43
TABELAS .....	44

## RESUMO

ALMEIDA, Vanessa Sabioni de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2013. **Compatibilidade de *Pochonia chlamydosporia* com fertilizante organomineral no manejo de *Meloidogyne javanica* em alface.** Orientador: Silamar Ferraz.

Métodos alternativos, utilizando a combinação de fungos nematófagos associados a um adubo organomineral têm sido pouco utilizados e devem ser mais estudados, visto que apresentam potencial de controle dos nematoides, além de suplementar a fertilidade e favorecer a biota do solo. Alia-se à isso a demanda crescente da sociedade, que está mais exigente quanto à utilização de práticas de manejo mais ecologicamente adequadas. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi testar a compatibilidade de um fertilizante organomineral à base de torta de mamona com o fungo *Pochonia chlamydosporia*, visando o controle de *Meloidogyne javanica* em alface. Dois testes foram realizados para estudar a viabilidade de *P. chlamydosporia* nos produtos Rizomax (contém o fungo *P. chlamydosporia*), e UFV-TM100 (fertilizante organomineral), com e sem adição de água. Foram colocados em saco plástico de 3 L, 100 g de UFV-TM100 e 1 g de Rizomax, sem adição de água. O saco foi fechado e agitado vigorosamente até homogeneização da mistura e mantido em uma sala fechada. A determinação do número de UFC de *P. chlamydosporia* foi realizada aos 0, 15, 30 e 45 dias, tanto no produto Rizomax puro como na mistura Rizomax + UFV-TM100. Para o segundo teste foi utilizada a mesma metodologia, porém com adição de água e a determinação do número de UFC de *P. chlamydosporia* foi realizada aos 0, 7, e 14 dias. No teste com adição de água não houve decréscimo do número de UFC de *P. chlamydosporia* no produto Rizomax no período estudado, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* na mistura Rizomax + UFV-TM100 foi reduzido em 27, 54 e 100%, respectivamente, aos 0, 7 e 14 dias em relação ao produto Rizomax. No teste sem adição de água não houve decréscimo do número de UFC de *P. chlamydosporia* no produto Rizomax no período estudado, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* na mistura Rizomax + UFV-TM100 foi reduzido em 30% aos 45 dias em relação aos 0, 15 e 30 dias. Um terceiro teste foi realizado com objetivo de estudar a colonização de um substrato por *P. chlamydosporia* na presença do UFV-TM100. Um litro de substrato

foi colocado em um saco plástico de 5 L contendo 18 g de UFV-TM100 e 0,18 g de Rizomax. O saco foi fechado e agitado vigorosamente por dois minutos para homogeneizar a mistura, a qual foi distribuída em três copos plásticos de 200 mL de capacidade cada. Um segundo tratamento, sem UFV-TM100, foi utilizado para avaliar o desenvolvimento de *P. chlamydosporia* na ausência do UFV-TM100. O substrato em cada copo plástico foi mantido úmido e amostras foram retiradas aos 0 e 14 dias para determinar o número de UFC de *P. chlamydosporia*. Não houve diferença no número de UFC de *P. chlamydosporia* entre os tratamento Rizomax e Rizomax + UFV-TM no períodos de avaliação, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* foi 61% maior aos 14 dias com relação ao 0 dia. Um quarto teste foi realizado para estudar o efeito das doses do produto Rizomax nas variáveis de crescimento da alface e no desenvolvimento de *M. javanica*. Vasos plásticos contendo 2 L de substrato receberam 36 g de UFV-TM100 e, após 15 dias, mudas de alface com 21 dias de idade foram transplantadas. Juntamente com o UFV-TM100, adicionou-se o produto Rizomax nas doses de 0, 0,36 e 0,45 g/2 Kg de substrato, as quais corresponderam a 0, 1 e 1,25% de Rizomax. O substrato em cada vaso foi infestado com 5000 ovos de *M. javanica* no mesmo dia da incorporação do UFV-TM100 e Rizomax. Como tratamento testemunha, foram testadas as mesmas doses de Rizomax, porém na ausência do UFV-TM100. Após 60 dias do transplante, avaliou-se o diâmetro da cabeça da alface (cm), o peso da matéria fresca, o peso da matéria seca, o peso do sistema radicular fresco, o número de galhas e de ovos de *M. javanica* por sistema radicular e o número de galhas e de ovos de *M. javanica* por grama de sistema radicular. Na presença do produto UFV-TM100 houve aumento de 41, 44 e 29% no diâmetro da cabeça da alface, no peso da matéria fresca da parte aérea e no peso da matéria seca da parte aérea, respectivamente. O número de galhas e ovos por grama de sistema radicular sofreram reduções de até 99% quando aplicado o UFV-TM100 + Rizomax na dose de 1,25%. A aplicação do Rizomax na ausência do UFV-TM100 também reduziu o número de galhas por sistema radicular e número de galhas por grama de sistema radicular, com reduções de 50 e 60%, respectivamente. Assim, na aplicação do fertilizante organomineral com a adição de um agente de controle biológico é uma alternativa eficiente de controle de nematoides, além de aumentar o desenvolvimento das plantas.

## ABSTRACT

ALMEIDA, Vanessa Sabioni de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2013. **Compatibility of *Pochonia chlamydosporia* com organic mineral fertilizer on the management of *Meloidogyne javanica* in lettuce.** Adviser: Silamar Ferraz.

Alternative methods that use a combination of nematophagous fungi associated with organic mineral fertilizer have been little used and shall be studied further, since they present potential for nematode control in addition to supplement fertility and improve soil biota. Moreover, there is a growing demand of the society, which has become more demanding on the use of management practices more environmentally appropriate. Thus, the objective of this work was to test the compatibility of an organic mineral fertilizer based on castor bean cake to *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica* in lettuce. Two tests were performed to study the viability of *P. chlamydosporia* in Rizomax (which contains fungus *P. chlamydosporia*), and UFV-TM100 (organic mineral fertilizer) with or without addition of water. One hundred grams of UFV-TM100 and 1 g of Rizomax were placed in a 3-L plastic bag with no addition of water. The bag was sealed and vigorously shaken until homogenization of the mixture and kept in a closed room. The determination of the CFU of *P. chlamydosporia* was carried out on days 0, 15, 30 and 45 both in pure Rizomax and Rizomax + UFV-TM100. The same methodology was used in the second test, but with the addition of water in the mixture and determination of CFU of *P. chlamydosporia* was carried out on days 0, 7 and 14. The number of CFU of *P. chlamydosporia* did not increase within the addition of water in Rizomax in the assessed period; however, the number of CFU was reduced by 27, 54 and 100% in the Rizomax + UFV-TM100 on days 0, 7 and 14, respectively, for the product Rizomax. The number of CFU of *P. chlamydosporia* in Rizomax did not decrease in the test with no addition of water, but the number of *P. chlamydosporia* in Rizomax + UFV-TM100 was reduced by 30% on day 45 in comparison to day 0, 15 and 30. A third test was conducted to study the colonization by *P. chlamydosporia* in a substrate in the presence of UFV-TM100. One litter of substrate was poured in a 5-L plastic bag containing 18 g of UFV-TM100 and 0.18 g of Rizomax. The bag was sealed and shaken vigorously for

two minutes to homogenize the mixture, which was distributed into three 200 mL plastic glasses. A second treatment, with no UFV-TM100, was used to evaluate the development of *P. chlamydosporia* in the absence of UFV-TM100. The substrate in each of the plastic glass was kept moist and samples were taken on days 0 and 14 to determine the number of CFU of *P. chlamydosporia*. The CFU number of *P. chlamydosporia* did not differ between Rizomax and Rizomax + UFV-TM treatments in the evaluation periods but the CFU number for *P. chlamydosporia* was 61% higher on day 14 than on day 0. A forth test was carried out to study the effect of the doses of Rizomax on the growth of lettuce and on the development of *M. javanica*. Plastic pots containing 2 L of substrate received 36 g of UFV - TM100, and after 15 days, lettuce seedlings at 21 days of age were transplanted. Rizomax was added together with TM100-UFV at doses of 0, 0.36 and 0.45 g/kg substrate, which corresponded to 0, 1, and 1.25% Rizomax . The substrate in each pot was infested with 5,000 eggs of *M. javanica* on same day of incorporation of UFV- TM100 and Rizomax incorporation. The same doses of Rizomax , but in the absence of UFV - TM100 were tested as control treatment. Sixty days after transplanting, the diameter of the head of lettuce (cm) , the fresh matter weight , the dry matter weight, the fresh root system weight, the number of galls and eggs of *M. javanica* per gram of root system were evaluated. The diameter of the head of the lettuce, the weight of the shooting fresh matter and the weight of shooting dry matter increased by 41, 44 and 29% , respectively, in the presence of UFV-TM100. The number of gals and eggs per gram of root system was reduced up to 99% when UFV-TM100 + Rizomax were applied at the dose of 1.25%. The application of Rizomax in the absence of UFV-TM100pla root system and the numb also reduced the number of galls per root system and the number of galls per gram of root system, with reductions of up to 50 and 60%, respectively. Therefore, the use of organic mineral fertilizer with the addition of a biological control agent is an efficient alternative to the control of nematodes, in addition to improve plant development.

## **CAPÍTULO I**

**Manejo de *Meloidogyne javanica* na cultura da alface com *Pochonia chlamydosporia* e fertilizante organomineral à base de torta de mamona**

## **A cultura da alface**

A alface (*Lactuca sativa* L.) é pertencente à família Cichoriaceae (Compositae), a mesma das chicórias e almeirões. Originária da região do Mediterrâneo, esta espécie vegetal já era utilizada como planta medicinal há 4500 a.C. Como hortaliça é registrada a sua utilização desde 2500 a.C., sendo trazida para o Brasil pelos Portugueses. As espécies silvestres trazidas na época ainda podem ser encontradas em regiões de clima temperado, no sul da Europa e na Ásia Ocidental (Goto & Tivelli, 1998).

É uma planta herbácea com pequeno caule, no qual as folhas crescem em forma de roseta, podendo ser lisas ou crespas formando ou não cabeça com coloração em vários tons de verde, ou roxa. Apresenta ciclo curto, grande área foliar e sistema radicular pouco profundo, exigindo solos areno-argilosos, ricos em matéria orgânica e com boa qualidade de nutrientes ativamente disponíveis para planta (Vidigal et al., 1995; Filgueira, 2003).

A alface representa a hortaliça mais popular, tanto pelo sabor e qualidade nutritiva e principalmente pela facilidade de aquisição, produção durante o ano todo e do seu baixo custo (Ohse et al., 2001; Oliveira et al., 2004; Cometti et al., 2004), sendo ainda, considerada como uma planta que apresenta propriedades tranquilizantes (Viggiano, 1990).

A alface é considerada a olerícola folhosa de expressiva importância econômica. Dentro do grupo das hortaliças folhosas ocupa o posto de líder nacional em comercialização e consumo (Agrianual, 2008). O Brasil possui uma área de aproximadamente 35.000 ha cultivados com alface, caracterizados pela produção intensiva, pelo cultivo em pequena áreas e por agricultores familiares, gerando cerca de cinco empregos diretos por hectare (Costa & Sala, 2005). Entre os estados brasileiros de maior produção destacam-se São Paulo e Minas Gerais, sendo que somente o estado de São Paulo plantou 10.026 ha em 2010 e produziu 5.932.821 engradados de 9 dúzias (IAE, 2011). A estimativa do custo de produção da alface convencional por hectare chega a R\$ 13.531,98, sendo o custo da “cabeça” da alface de R\$ 0,30, considerando uma produtividade de 24.000 kg por hectare (Emater – DF, 2012).

A alface além de possuir uma importância social e econômica possui também importância na qualidade alimentar. A alface é fonte de vitaminas e sais minerais, destacando seu elevado teor de vitamina A (Lopes et al., 2003). Seu

consumo é preferencialmente em saladas com suas folhas frescas apresentando em média a cada 100 gramas um composição de: água 94%; valor calórico de 18 kcal; proteína de 1,8 g; gordura de 0,3 g; carboidratos 3,5 g; fibra 0,7 g; cálcio 68 mg; fósforo 27 mg; potássio 264 mg; vitamina A de 1900 UI; tiamina 0,05 mg; riboflavina 0,08 mg; niacina 0,4 mg; vitamina C 18 mg (Sgarbieri, 1987).

As principais doenças da alface são a virose mosaico-da-alface, virose vira-cabeça, septoriose (*Septoria lactucae* Passerini), podridão-basal (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) e míldio (*Bremia lactucae* Regel) (Filgueira, 2000). Em condições de elevadas temperaturas, as plantas de alface têm sido afetadas por problemas de pendramento precoce e ocorrência de nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp. Göldi), (Fiorini et. Al, 2005). O controle das doenças com o uso de defensivos químicos deve, sempre que possível, ser evitado, pois pode deixar resíduo tóxico na planta para o consumidor. Outros meios de controle são sugeridos, sendo importante enfatizar que o ideal é utilizar cultivares melhoradas, resistentes à certas doenças. Embora os trabalhos de melhoramento de alface no Brasil tenham alcançado progressos significativos e contribuído para o plantio desta espécie, problemas com a incidência de patógenos como os nematoides ainda persistem.

### **Os fitonematoides**

Os fitonematoides são responsáveis por grandes perdas na agricultura em todo o mundo, inviabilizando o cultivo em determinadas áreas. Os nematoides causadores de galhas radiculares, *Meloidogyne* spp., são um dos principais patógenos agrícolas, em função de sua ampla distribuição, vasta gama de hospedeiros e elevados prejuízos provocados. No Brasil, como em outras partes do mundo, os nematoides-das-galhas têm sido encontrados associados a culturas de grande importância econômica e são fator limitante à produção de algumas delas, como algodão, batata, café, cana-de-açúcar, cenoura, fumo, soja, tomate, dentre outras (Lordello, 1982).

As perdas devidas ao ataque de nematoides na agricultura mundial são de aproximadamente 14% e representam, anualmente, mais de US\$ 80 bilhões/ano (Agrios, 2005). No Brasil, estimativas de perdas causadas pelos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) variam de 5 a 15%, dependendo da cultura (Lordello, 1988). Em vista da falta de conhecimento da importância econômica dos

nematoides, pouca atenção tem sido dada a esses organismos nos agroecossistemas, somente assumindo “status” de patógeno quando sua população se encontra muito elevada, com prejuízos acentuados.

O controle dos nematoides é mais difícil comparado a outras pragas devido ao fato de principalmente habitarem o solo e, geralmente, atacarem as raízes das plantas (Stirling, 1991). Na redução da densidade populacional desses fitopatógenos, algumas medidas podem ser adotadas, como o controle químico, a rotação de culturas e o uso de variedades resistentes.

O controle químico, baseado no uso de nematicidas, tem tido espaço limitado na agricultura mundial, principalmente a partir da década de 80, com a retirada de vários produtos do mercado, devido à sua persistência no solo, à contaminação dos lençóis freáticos e aos efeitos prejudiciais aos seres humanos e à fauna do planeta. Somam-se a estes fatores os altos custos e a eficiência temporária de alguns produtos (Jatala, 1986; Stirling, 1991; Kerry, 2001).

Atualmente, vem se enfatizando o manejo integrado de nematoides, que vem a ser a combinação de vários métodos de controle. Essa combinação de métodos envolve o uso de variedades resistentes, rotação de culturas, o pousio, a inundação, o uso de cultivos intercalares, aplicação de materiais orgânicos, produtos biológicos, plantas antagonicas entre outras. Dentre esses, nas últimas décadas, o interesse pelo controle biológico de nematoides vem se intensificando (Barron, 1977; Mani, 1988; Fattah, 1989; Santos, 1991).

### **Fitonematoides na alface**

A alface é muito suscetível a *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) e *M. javanica* (Treub) Chitwood (Lordello, 1988) que são as duas espécies de maior ocorrência em áreas de hortaliças no Brasil (Campos, 1995). O ciclo da cultura tem aproximadamente 45 dias o que leva os produtores a fazer quatro cultivos consecutivos numa mesma área, proporcionando, em áreas infestadas, aumento populacional de nematoides das galhas acima do nível de prejuízo. Ambas as espécies causam galhas no sistema radicular o que provoca debilidade intensa das plantas. As galhas obstruem a absorção de água e nutrientes do solo, resultando em plantas amareladas, com cabeça de tamanho reduzido e pequeno volume foliar (Charchar & Moita, 1996). Consequentemente, retardam o ciclo da cultura e levam muitas plantas à morte (Agrios, 2005).

No Brasil, as perdas ocasionadas por nematoides em alface variam de acordo com o manejo adotado pelo produtor (Zambolim et al., 2000). No entanto, a situação é mais crítica em sistema orgânico de produção, devido ao controle químico não ser permitido pelas normas de certificação, portanto, torna-se de extrema importância estudar técnicas alternativas para controlar fitonematoides. De acordo com Jesus Junior et al. (2004) raras são as pesquisas no Brasil com o intuito de definir os danos e as perdas causadas pelos nematoides, principalmente na cultura da alface cultivada em campo.

Desejando-se um controle dos nematoides que seja satisfatório para a cultura da alface, o uso de fertilizantes organominerais com atividade nematicida e a adição de agentes de controle biológico tem sido cada vez mais estudados, inclusive para a agricultura orgânica. Tihohod (1993) indica várias medidas de manejo para fitonematoides.

### **Adubação orgânica para o manejo de fitonematoides**

Com o intuito de reduzir e eliminar os efeitos dos fertilizantes sintéticos e pesticidas no meio ambiente e na saúde humana, práticas agrícolas mais saudáveis têm sido utilizadas, caracterizando a agricultura orgânica, ecológica ou sustentável. (Aksoy, 2001; Chowdhury, 2004). A agricultura orgânica fundamenta-se na melhoria da fertilidade do solo, tendo como princípio básico a aplicação de matéria orgânica, por meio de resíduos orgânicos vegetais ou animais, objetivando o equilíbrio biológico e a reciclagem de nutrientes (Darolt, 2002). As principais fontes de adubos orgânicos são derivados de estrume animal, resíduos vegetais e/ou resíduos industriais. A adubação orgânica, além de incrementar a produtividade, também proporciona a obtenção de plantas com qualidades diferentes das cultivadas com adubos minerais (Santos et al. 1994).

O mecanismo de ação da matéria orgânica na supressão de fitonematoides tem sido atribuído, na maioria das vezes, à melhoria da estrutura dos solos. Esta inclui desde mudanças no pH, umidade e nas propriedades químicas e físicas do solo, resultando em maior aeração, capacidade de retenção de água, melhoria na nutrição da planta ou no desenvolvimento de microrganismos que competem com os nematoides fitoparasitas, por meio da liberação de nutrientes à planta, aumento da população de predadores ou de microrganismos parasitas existentes no solo, ou

por meio da liberação de metabólitos tóxicos devido à sua decomposição, como compostos fenólicos, NH<sub>3</sub> ou nitrito, íons de Ca<sup>+</sup> (Ritzinger e Fancelli, 2006).

Bulluck et al. (2002) afirmam que compostos orgânicos usados como melhoradores alternativos da fertilidade do solo, podem resultar em incremento da matéria orgânica e atividade biológica do solo visando não só à melhoria das propriedades físicas e químicas do solo mas também à redução das quantidades de adubos químicos que são aplicados (Ricci et al., 1995). Freitas et al. (2009) avaliaram a viabilidade de compostos orgânicos para a adubação da cultura da alface e concluíram que com a utilização do composto orgânico, a adubação química (NPK) pode ser reduzida em 30%; e quando o composto orgânico foi associado com a cama de frango, a redução da adubação química pôde ser reduzida em até 50%. É reconhecida a importância e a necessidade da adubação em hortaliças, sendo o sucesso da produção totalmente ligado à nutrição das plantas. Logo, o uso de adubos orgânicos principalmente nas hortaliças folhosas como na cultura da alface, visa compensar as perdas de nutrientes ocorridas durante seu cultivo (Kimoto, 1993).

Relatos de vários pesquisadores tem sido feitos abordando diversos resíduos agrícolas no controle de *Meloidogyne* spp., tais como torta de mamona, bagaço de casca de uva, sementes de mamão e palha de café (Zambolim et al., 1996, Akhtar & Malik, 2000; Nico et al., 2004; Neves et al., 2005; Coutinho et al., 2009). Alguns materiais orgânicos, além do potencial nematicida, podem ser utilizados como substrato para o crescimento e a veiculação de agentes de controle biológico, como por exemplo o fungo *Pochonia chlamydosporia* Zare e Gams (Lopes et al., 2007; Coutinho et al., 2009).

### **Fertilizantes organominerais: Conceito e importância**

O fertilizante organomineral se constitui num produto novo e alternativo, fruto do enriquecimento de adubos orgânicos com fertilizantes minerais. Como decreto 86.955, de 18/02/1982, aparece na lei pela primeira vez a palavra fertilizante organomineral, definida no Capítulo I das disposições preliminares, como fertilizante procedente de mistura ou combinação de fertilizantes minerais e orgânicos (Brasil, 1983).

A principal razão para se adicionar fertilizantes minerais aos adubos orgânicos, é diminuir a taxa de mineralização do nutrientes, principalmente

nitrogênio, fósforo e potássio. Como consequência da adição dos fertilizantes minerais aos adubos orgânicos, tem-se a vantagem de o fertilizante organomineral poder ser empregado em menores quantidades por área, além do menor custo de transporte (Kiehl, 1999).

O uso dos fertilizantes organominerais vem crescendo em todo o Brasil. Na busca por insumos menos agressivos ao ambiente e que possibilitem o desenvolvimento de uma agricultura menos dependente de produtos industrializados, vários produtos têm sido lançados no mercado (Deleito et al. 2000). A formulação de fertilizantes organominerais é uma possibilidade inovadora de veicular resíduos orgânicos e fertilizantes minerais que podem ser utilizados pela agricultura orgânica ou convencional, de maneira a atuarem no manejo de nematoides. Portanto, um produto que aumente a fertilidade e a atividade biológica do solo, que melhore as propriedades físicas do solo e que ainda seja eficiente no controle de nematoides e outros patógenos de solo pode representar grande diferencial no mercado.

#### **Fertilizante organomineral com atividade nematicida (UFV-TM100)**

No Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides (BIONEMA), do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, foi desenvolvida uma formulação que originou um fertilizante organomineral à base de torta de mamona e palha de café (UFV-TMC10) registrado como Documento de Patente no Instituto Nacional de Propriedade Industrial, nº PI0904349-7, que, quando aplicado em covas de plantio, favoreceu o desenvolvimento do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e apresentou ação supressora sobre a população de *Meloidogyne exigua* Goeldi (Ferreira, 2008). No entanto, a formulação UFV-TMC10 foi alterada visando reduzir o custo do produto e facilitar o seu preparo, sendo que a nova formulação é a base apenas de torta de mamona (UFV-TM100). A nova formulação UFV-TM100 foi testada em plantios de tomate, banana, café, alface e pepino, favorecendo o desenvolvimento das plantas e apresentando ação supressora sobre a população de *M. exigua* para o cafeeiro e sobre *M. javanica* para os demais cultivos (Ferreira 2012).

O resíduo da prensagem das sementes de mamona, após a extração de óleo, é chamado de torta de mamona. Tradicionalmente, este subproduto tem sido utilizado como adubo orgânico, devido o alto teor de nitrogênio. Seu uso como

insumo agrícola é precioso pelo provimento de matéria orgânica ao solo e nutrientes às culturas, bem como pelo seu efeito nematicida, diminuindo o uso de produtos agroquímicos poluentes. Também tem efeito na capacidade de regeneração de solos degradados, por conter cerca de 89% de matéria orgânica (Savy, 2007).

Estudos sugerem o uso da torta de mamona como produto alternativo na redução da população de nematoides no solo. De acordo com Dutra et al (2006) em cafeeiros irrigados a aplicação da torta de mamona no controle de nematoide pode ser atribuída, provavelmente, aos seguintes efeitos: ação do complexo ricina-ricinina presente na torta de mamona, que pode ter toxicidade aos nematoides; ação nutricional promovida pela torta de mamona; ou ainda pela ação conjunta desses efeitos. Em tomateiro também verificou-se a eficiência da torta no combate do nematoide *Nacobbus aberrans* sendo o efeito atribuído à liberação de compostos tóxicos e da lectina, da ricina e da ricina - aglutinina (Navarro et al., 2002).

### **Controle biológico de fitonematoides**

O termo “controle biológico” é definido como sendo a redução da população de um organismo alvo por outro organismo vivo, que não plantas resistentes (Stirling, 1991). Este controle pode ocorrer naturalmente, através do equilíbrio biológico natural da microbiota do solo, ou de forma induzida, implementado por programas que visam aumentar a população e a atividade dos antagonistas dos nematoides (Jatala, 1986; Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995).

Dentre os organismos antagonistas mais propícios para o controle biológico de fitonematoides estão: as rizobactérias promotoras de crescimento; bactérias parasitas obrigatórias; fungos nematófagos endoparasitas; fungos parasitas de ovos e de fêmeas; fungos predadores e fungos endomicorrízicos (Sikora, 1992).

Desses organismos, os mais estudados são os fungos, seguidos das bactérias. Entre as bactérias, a que tem sido mais estudada é a *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr. *P. penetrans* controla os nematoides em diversas culturas por meio da redução da penetração de juvenis de segundo estágio (J<sub>2</sub>) nas raízes e pela inibição da produção de ovos pela fêmea. Sua utilização é limitada devido à dificuldade de produção de seu inóculo *in vitro* em escala comercial. Além disso,

seus isolados apresentam alto grau de especificidade no parasitismo (Freitas & Carneiro, 2000; Carneiro & Freitas, 2006).

As rizobactérias e bactérias endofíticas, principalmente *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp., também tem sido pesquisadas e apresentado potencial como agentes de biocontrole, pois tem demonstrado a capacidade de induzir resistência sistêmica (RSI) ao hospedeiro (Sikora, 1992; Freitas, 2006; Sikora *et al.*, 2007).

Os fungos antagonistas, também conhecidos como nematófagos, são classificados em predadores, endoparasitas, produtores de metabólitos tóxicos e parasitas de ovos e fêmeas (Barron, 1977; Mankau, 1980; Jatala, 1986; Stirling, 1991; Chen & Dickinson, 2004). Os endoparasitas produzem esporos que são ingeridos ou aderidos à cutícula dos fitonematoídeos. Posteriormente, esses esporos germinam e dão origem às hifas que colonizam o corpo do fitonematoídeo. Seu potencial de uso como agente de biocontrole é limitado, pois são muito sensíveis às variações químicas, físicas e biológicas do solo. Exemplos desses fungos são *Catenaria anguillulae*, *Myzocythium* spp., *Haptoglossa heterospora*, *Hirsutella rhossoliensis*, *Nematoctonus* spp. (Barron, 1977; Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995; Chen & Dickinson, 2004; Hertz *et al.*, 2006).

Os fungos predadores formam estruturas especializadas, do tipo armadilhas, para a captura dos fitonematoídeos ao longo de suas hifas. O micélio fúngico cresce a partir do corpo do fitonematoídeo capturado produzindo novas estruturas. Apresentam habilidade saprofítica variada e produzem diferentes tipos de armadilhas: hifas adesivas não-diferenciadas, redes adesivas, nódulos adesivos, anéis constritores e não-constritores. Importantes exemplos são encontrados no gênero *Arthrobotrys*. A produção das armadilhas é induzida pela presença do fitonematoídeo, sendo essa uma das limitações no desenvolvimento desses fungos como agentes de biocontrole (Barron, 1977; Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995; Chen & Dickinson, 2004; Hertz *et al.*, 2006). Existem produtos no mercado, como ‘Nemastin’, elaborado com a mistura de *Arthrobotrys* spp., *Verticillium* spp. e *Paecilomyces* spp., na Índia, e ‘Nemat<sub>Ap</sub>’, que consiste na mistura de *Arthrobotrys* spp. e *Paecilomyces* spp., no Brasil.

Alguns fungos nematófagos são produtores de metabólitos tóxicos que interferem no comportamento do fitonematoídeo. Entre estes destacam-se *Paecilomyces lilacinus*, *Myrothecium* spp., *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp.,

*Pleurotus* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. (Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995; Chen & Dickinson, 2004). Produtos comerciais elaborados com esses agentes já foram lançados no mercado mundial, destacando-se BioAct<sup>®</sup> e MeloCon<sup>®</sup>, ambos à base de *Paecilomyces lilacinus* e DiTera<sup>®</sup>, que é um produto originado da fermentação de *Myrothecium verrucaria* (Guerena, 2006).

Entre os fungos nematófagos parasitas de ovos e fêmeas, destacam-se *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia*. São saprofíticos, estabelecem-se facilmente no solo e colonizam rapidamente ovos e fêmeas de fitonematoides, destruindo de uma só vez grande número de indivíduos (Stirling, 1991).

### ***Pochonia chlamydosporia* como agente de controle biológico de fitonematoides**

Dentre os agentes de controle biológico de nematoides, os fungos que parasitam ovos são os que apresentam maior perspectiva de utilização, devido à facilidade de produção in vitro, e à possibilidade de algumas espécies colonizarem a rizosfera, sem prejuízo às raízes das plantas (López-Llorca et al., 2002). Os nematoides formadores de galhas depositam seus ovos em massas envoltas por uma substância gelatinosa de constituição lipoprotéica, o que facilita a rápida disseminação dos fungos endoparasitas (Carneiro, 1992). Esses fungos induzem desordens fisiológicas nos ovos, interrupção no desenvolvimento embriogênico e, em alguns casos, rompimento físico (Dackman et al., 1989). Além disso, são parasitas facultativos, o que facilita a multiplicação in vitro e a sobrevivência no solo (Ferraz & Santos, 1995).

*Pochonia chlamydosporia* tem sido extensivamente investigado como um potencial agente biológico de controle de nematoides de cisto e galhas (Kerry & Jaffee, 1997). Este fungo não depende do nematoide para sua nutrição, podendo sobreviver como um saprófita no solo, crescendo em matéria orgânica entre as estações de cultivo. Ademais, esse fungo também produz clamidósporos, estruturas de armazenamento de reservas nutricionais e de sobrevivência que favorecem sua manipulação e produção in vitro. Outra característica marcante é a sua capacidade de colonização da rizosfera de algumas plantas, permitindo a multiplicação do seu inóculo (Kerry, 2001).

Vários autores relataram o controle de fitonematoides por *P. Chlamydosporia*. Lopes et al. (2007) estudou o efeito de quatro isolados de *P. chlamydosporia* para o controle de *M. Javanica* em tomateiro e concluiu que dos quatros isolados testados, dois reduziram em 75,3 a 85,6 % o número de ovos do nematoide. Dallemole-Giaretta et al. (2010) avaliou o controle de *M. javanica* por meio da aplicação de diferentes doses de palha de café por kg de solo, colonizada ou não por *P. Chlamydosporia*, e concluiu que a incorporação ao solo do material orgânico colonizado pelo fungo reduziu em até 46,6 e 71,7% os números de galhas e ovos, respectivamente. Coutinho et al. (2009) avaliou a efetividade de *P. Chlamydosporia* em diferentes doses de farinha de sementes de mamão para o controle de *M. Javanica*, em casa de vegetação, e concluiu que o número de ovos reduziu em até 45, 79 e 95% quando a farinha foi incorporada nas doses de 1, 2 ou 4 g/kg de solo.

Métodos alternativos, utilizando a combinação de fungos nematófagos associados a um adubo organomineral têm sido pouco utilizados e devem ser mais estudados, visto que apresentam potencial de controle dos nematoides, além de suplementar a fertilidade e favorecer a biota do solo. Alia-se à isso a demanda crescente da sociedade, que está mais exigente quanto à utilização de práticas de manejo mais ecologicamente adequadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL. 2008. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP, 2008. Alface, p. 345.
- AGRIOS GN. 2005. **Plant Pathology**. 5<sup>th</sup> Ed. Amsterdam. Elsevier Academic Press.
- AKHTAR, M.; MALIK, A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. **Biorresource Technology**, 74:35-47.
- AKSOY, U. 2001. Ecological Farming. II. **Ecological Farming Symposium in Turkey**, 14-16. December. Antalya.
- BARRON, G.L. 1977. The nematode-destroying fungi. **Ontario: Canadian Biological Publications Ltda**, Ghelph, 140p.
- BRASIL. 1983. Ministério Da Agricultura. Secretaria Nacional De Defesa Agropecuária. Inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, destinados à agricultura. Brasília: **Secretaria de Fiscalização Agropecuária**, 86p.
- BULLUCK, L.R.; BROSIUS, M.G.; EVANYLO, K.; RISTAINO, J.B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. **Applied Soil Ecology**, 19:147-160.
- CAMPOS, V.P. 1995. Doenças causadas por nematoides em alcachofra, alface, chicória, morango e quiabo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 182, p. 17-22.
- CARNEIRO, R.M.D.G.1992. Princípios e tendências do controle biológico de nematoides com fungos nematófagos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 27:113-121.

- CHARCHAR, J.M.; MOITA, A.W. 1996. Reação de cultivares de alface à infecção por misturas populacionais de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *Meloidogyne javanica* em condições de campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.14, n.2, p.185-189..
- CHEN, S.; DICKINSON, D.W. 2004. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: Chen Z, Chen S, Dickinson DW (Eds.) Nematology – advances and perspectives. Volume II: Nematode management and utilization. Beijing & Wallingford. **Tsinghua University Press & CABI Publishing**, pp. 979-1039.
- CHOWDHURY, R. 2004. Effects of chemical fertilizers on the surrounding environment and the alternative to the chemical fertilizers. **IES- ENVIS NEWSLETTER**, 7(3): 4-5.
- COMETTI, N.N.; MATIAS, G.C.S.; ZONTA, E.; MARY, W.; FERNANDES, M.S. 2004. Compostos nitrogenados e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional. **Horticultura Brasileira** 22:748-753.
- COSTA, D.P.; SALA, F.C. 2005. A evolução da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 164.
- COUTINHO, M.M.; FREITAS, L.G.; DALLEMOLEGIARETTA, R.; NEVES, W.S.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S. 2009. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, 33(2): 169-175.
- DACKMAN, C.; CHET, I.; NORDBRING, H. B. 1989. Fungal parasitism of the cyst nematode *Heterodera schachtii*: Infection and enzymatic activity. **FEMS Microbiology Ecology**, 62:201-208.
- DALLEMOLE, G. R.; FREITAS, L.G.; COUTINHO, M.M.; NEVES, W.S.; ZOOCA, R.J.F. & FERRAZ, S. 2010. Efeito da Farinha de Sementes de Abóbora e de *Pochonia chlamydosporia* no Controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba (SP) Brasil, Vol. 34(2).

- DAROLT, M.R. 2002. Agricultura orgânica: inventando o futuro. Londrina PR. IAPAR.
- DELEITO, C.S.R.; CARMO, G.F.; ABBOUND, A.C.S.; FERNANDES, M.C.A. 2000. Sucessão microbiana durante o processo de fabricação do biofertilizante Agrobio. In: **FERTBIO**. Santa Maria, RS: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo e da Sociedade Brasileira de Microbiologia, CD-ROM.
- DUTRA, M.R.; PAIVA, B.R.T.L.; MENDONÇA, P.L.P.; GONZAGA, A.; CAMPOS, V.P.; NETO, P.C.; FRAGA, A. 2006. Utilização de silicato de cálcio e torta de mamona no controle do nematoide *Meloidogyne exigua* em cafeeiro irrigado. Congresso Brasileiro De Mamona II, Aracaju, SE. **Cenário Atual e Perspectivas: anais. Campina Grande: Embrapa Algodão**. Não paginado.
- EMATER – DF. 2012. Administração rural: custos de produção: alface cultivo orgânico e tradicional. Disponível em: <http://www.emater.df.gov.br>. Acesso em: 29 de janeiro de 2012.
- FATTAH, F.A.; SALEH, H.M.; ABOUD, H.M. 1989. Parasitism of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by *Pasteuria penetrans* in Iraq. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 21, n.3, p.431-433.
- FERRAZ, S.; SANTOS, M.A. 1995. Controle biológico de fitonematoides pelo uso de fungos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo (RS), 3:283-314.
- FERREIRA, P.A. 2008. Formulação de condicionador de solo para uso em covas de plantio de café, visando ao controle de *Meloidogyne exigua*. Dissertação de Mestrado. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa.
- FERREIRA, P.A. 2012. Avaliação de um fertilizante organomineral com atividade nematicida (Tese de Doutorado), Viçosa. Universidade Federal de Viçosa.

- FILGUEIRA, F.A.R. 2000. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 402p. : 40 - 135, 288 – 295.
- FILGUEIRA, F.A.R. 2003. Novo Manual de Olericultura: **Agrotecnologia moderna na produção de hortaliças**. 2. ed. rev. e ampl. Viçosa: UFV, 412 p.
- FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; FIORINI, I.V.A.; DUARTE R.P.F.; LICURSI, V. 2005. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.299-302.
- FREITAS, L.G. 2006. Rizobactérias versus nematoides. <http://www.ufv.br/dfp/lab/nematologia/rizo.pdf>.
- FREITAS, L.G.; CARNEIRO, R.M.D.G. 2000. Controle biológico de fitonematoides por *Pasteuria* spp. In: Melo IS, Azevedo JL (Eds.) Controle biológico v. II. Jaguariúna. **Embrapa Meio Ambiente**. pp.91-125.
- FREITAS, M.E.; BONO, J.A.M.; PEDRINHO, D.R.; CHERMOUTH, K.S.; YAMOMOTO, C.R.; VIDIS, R.Y. 2009. Utilização de compostos orgânicos para adubação na cultura da alface. **Agrarian**, v. 2, n. 3, p.41-52.
- GOTO, R.; TIVELLI, S.W. 1998. Produção de hortaliças em ambiente protegido: Condições Subtropicais. São Paulo: **Fundação Editora da UNESP**, 319 p., p. 15 -104, 137-159.
- GUERENA, M. 2006. Nematodes: alternative controls. <http://attra.ncat.org/attra-pub/PDF/nematode.pdf>. Acesso em 24 de Junho, 2009.
- HERTZ, B.N.; JANSSON, H.B.; TUNLID, A. 2006. Nematophagous fungi. <http://www.ua.es/personal/hb.jansson/Reprints/N-Hertz%20et%20al%20ELS%202006.pdf>.
- IEA. 2011. Banco de Dados: área de produção dos principais produtos da agropecuária. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/banco/menu.php>. Acesso em: 29 de janeiro de 2013.

- JATALA, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, 24:453-489.
- JESUS, J.W.C.; BERGAMIM, F.A.; VALE, F.X.R.; AMORIM, L. 2004. Tomada de decisão no manejo de doenças de plantas. In: Vale FXR, Jesus Junior WC, Zambolim L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Perfil Editora, 531p.
- KERRY, B.A.; JAFFEE, B.A. 1997. Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes. In: Wicklow DT, Söderström B, eds. **The Mycota IV Environmental and Microbial Relationships**. New York, USA: Springer-Verlag, 203–18.
- KERRY, B.R. 2001. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: Butt TM, Jackson C, MAGAN N (ed). Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. **CAB International, Wallingford - UK**, p. 380.
- KIEHL, E.J. 1999. Fertilizantes organominerais. Piracicaba: **Agronômica Ceres**, 146p.
- KIMOTO, T. 1993. Nutrição e Adubação de repolho, couve-flor e brócolis. In: Nutrição e adubação de hortaliças. Jaboticabal, 1993. **Anais. Jaboticabal: UNESP**, p.149-178.
- LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P.A.; FREITAS, L.G.; DHINGRA, O.D.; GARDIANO, C.G.; CARVALHO, S.L. 2007. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, vol. 31, n. 2, p. 20-26.
- LOPES, M.C.; MATTE, J.D.; GARTNER, M.; FRANZENER, G.; CASIMIRO, L.N.; SEVIGNANI, A. 2003. Acúmulo de nutrientes por cultivares de alface em cultivo hidropônico no inverno. **Horticultura Brasileira**, v. 21, p. 204-209.

- LÓPEZ, L.L.V.; GORDALLO, J.J.; SALINAS, J.; MONFORD, M.L.; LOPEZ, S.M.L. 2002. Use of a light and scanning electron microscopy to examine colonization of barley rhizosphere by the nematophagous fungus *Verticillium clamydosporium*. **Micron**, 33: 61-67.
- LORDELLO, L.G.E. 1982. Nematoides das plantas cultivadas. 7 ed. Nobel, São Paulo, 314p.
- LORDELLO, L.G.E. 1988. Nematoides das plantas cultivadas. 8ª ed. São Paulo: Nobel, 155p.
- MANI, A. 1988. Studies on the bacterial parasite *Pasteuria penetrans*. I. Spore viability after storage. II. Culture on citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans*. **International Nematology Network Newsletter**, Raleigh, v.5, n.1, p.24-25.
- MANKAU, R. 1980. Biological control of nematode pests by natural enemies. **Annual Review of Phytopathology**, 18:415-440.
- NAVARRO, F.F.; VERA, I.C.D.; MEJIA, E.Z.; GARCIA, O.S. 2002. Aplicación de enmiendas orgánicas para el manejo de *Nacobbus berrans* en tomate. **Nematropica**, Bradenton, v. 32, n. 2.
- NEVES, W.S.; COUTINHO, M.M.; ZOOCA, R.J.F.; DALLEMOLE, G.R.; FREITAS, L.G.; PARREIRA, D.F. 2005. Inibição da eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* por extrato aquoso de sementes de mamão. In: **Congresso Brasileiro De Fitopatologia**, XXXVIII, Goiânia. Resumos,p. 171.
- NICO, A.I.; JIMÉNEZ, D.R.M.; CASTILLO, P. 2004. Control of root-knot nematodes by composted agroindustrial wastes in potting mixtures. **Crop Protection**, 23:581-587.
- OHSE, S.; DOURADO, N.D.; MANFRON, P.A.; SANTOS, O.S. 2001. Qualidade de cultivares de alface produzidas em hidroponia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 181-185.

- OLIVEIRA, A.C.B.; SEDIYAMA, M.A.N.; PEDROSA, M.W.; PINHEIRO, N.C.; GARCIA, S.L.R. 2004. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum. Agronomy Maringá**, v. 26, n. 2, p. 211-217.
- RICCI, L.; WEIDEMULLER, M.; ESSLINGER, T.; ZIMMERMANN, C.; HANSCH, T. 2005. A compact grating-stabilized diode laser system for atomic physics. In: **Optics Communications**, Vol. 117, p.541-549.
- RITZINGER, C.H.S.P.; FANCELLI, M. 2006. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p.331-338.
- SANTOS, M.A. 1991. Detecção, isolamento e avaliação do potencial antagonista de fungos nematofagos presentes em solos brasileiros. **Dissertação de Mestrado em Fitopatologia**, Universidade Federal de Viçosa, 97p.
- SANTOS, R.H.S.; CASALI, V.W.D.; CONDÉ, A.R.; MIRANDA, L.C.G. 1994. Qualidade de alface cultivada com composto orgânico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 29-32.
- SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. 1987. A world perspective of nematology: the role of the society J.A. Veech, D.W. Dickson (Eds.), *Vistas on Nematology: A Commemoration of the Twenty-fifth Anniversary of the Society of Nematologists*, **Society of Nematologists, Inc, Hyattsville, Maryland**, pp. 7-14.
- SAVY, F.A. 2007. Mamona (*Ricinus communis*) - desenvolvimento de tecnologia de produção. Prêmio Péter Murány I.
- SCHNEIDER, S.M.; ROSSKOPF, E.N.; LEESCH, J.G.; CHELLEMI, D.O.; BULL, C.T.; MAZZOLA, M. 2003. Research on alternatives to methyl bromide: pre-plant and post-harvest. **Pest Manag Sci** 59:814-826.
- SGARBIERI, V.C. 1987. Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento. **Campinas: UNICAMP**, 387 p.

- SIKORA, R.A. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, 30:245-270.
- SIKORA, R.A.; SCHAFER, K.; DABABAT, A.A. 2007. Modes of action associated with microbially induced *in plant* suppression of plant-parasitic nematodes. **Australasian Plant Pathology Society**, 36:124-134.
- STIRLING, G.R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: progress problems, and prospects. **CAB International**, Wallingford, Oxon, UK.
- TIHOHOD, D. 1993. Nematologia agrícola aplicada, **FUNEP**, 372p.
- VIDIGAL, S.M.; RIBEIRO, A.C.; CASALI, V.W.D.; FONTES, L.E.F. 1995. Resposta a alface (*Lactuca sativa* L.) ao efeito residual da adubação orgânica. I - Ensaio de Campo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 42, n. 239, p. 80-88.
- VIGGIANO, J. 1990. Produção de sementes de alface. In: Castellane, P. D.; Nicolosi, W. M.; Hasegawa, M. (Eds) Produção de sementes de hortaliças. **Jaboticabal: FCAV/FUNEP**, p.1-13.
- ZAMBOLIM, L.; SANTOS, M.A.; BECKER, W.F.; CHAVES, G.M. 1996. Agro-waste soil amendments for the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. **Fitopatologia Brasileira**, 21(2):250-253.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. & COSTA, H. 2000. Controle de doenças de plantas – Hortaliças. v. 2. Viçosa MG. Suprema Gráfica e Editora.
- ZASADA, I.A.; FERRIS, H.; ZHENG, L. 2002. Plant sources of Chinese herbal remedies: Laboratory efficacy, suppression of *Meloidogyne javanica* in soil, and phytotoxicity assays. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.34, p.124-129.

## **CAPÍTULO II**

### **COMPATIBILIDADE DE *Pochonia chlamydosporia* COM FERTILIZANTE ORGANOMINERAL NO MANEJO DE *Meloidogyne javanica* EM ALFACE**

## RESUMO

ALMEIDA, Vanessa Sabioni, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2013. **Compatibilidade de *Pochonia chlamydosporia* com fertilizante organomineral no manejo de *Meloidogyne javanica* em alface.** Orientador: Silamar Ferraz.

Métodos alternativos, utilizando a combinação de fungos nematófagos associados a um adubo organomineral têm sido pouco utilizados e devem ser mais estudados, visto que apresentam potencial de controle dos nematoides, além de suplementar a fertilidade e favorecer a biota do solo. Alia-se a isso a demanda crescente da sociedade, que está mais exigente quanto à utilização de práticas de manejo mais ecologicamente adequadas. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi testar a compatibilidade de um fertilizante organomineral à base de torta de mamona com o fungo *Pochonia chlamydosporia*, visando o controle de *Meloidogyne javanica* em alface. Dois testes foram realizados para estudar a viabilidade de *P. chlamydosporia* nos produtos Rizomax (contém o fungo *P. chlamydosporia*), e UFV-TM100 (fertilizante organomineral), com e sem adição de água. Foram colocados em saco plástico de 3 L, 100 g de UFV-TM100 e 1 g de Rizomax, sem adição de água. O saco foi fechado e agitado vigorosamente até homogeneização da mistura e mantido em uma sala fechada. A determinação do número de UFC de *P. chlamydosporia* foi realizada aos 0, 15, 30 e 45 dias, tanto no produto Rizomax puro como na mistura Rizomax + UFV-TM100. Para o segundo teste foi utilizada a mesma metodologia, porém com adição de água e a determinação do número de UFC de *P. chlamydosporia* foi realizada aos 0, 7, e 14 dias. No teste com adição de água não houve decréscimo do número de UFC de *P. chlamydosporia* no produto Rizomax no período estudado, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* na mistura Rizomax + UFV-TM100 foi reduzido em 27, 54 e 100%, respectivamente, aos 0, 7 e 14 dias em relação ao produto Rizomax. No teste sem adição de água não houve decréscimo do número de UFC de *P. chlamydosporia* no produto Rizomax no período estudado, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* na mistura Rizomax + UFV-TM100 foi reduzido em 30% aos 45 dias em relação aos 0, 15 e 30 dias. Um terceiro teste foi realizado com objetivo de estudar a colonização de um substrato por *P. chlamydosporia* na

presença do UFV-TM100. Um litro de substrato foi colocado em um saco plástico de 5 L contendo 18 g de UFV-TM100 e 0,18 g de Rizomax. O saco foi fechado e agitado vigorosamente por dois minutos para homogeneizar a mistura, a qual foi distribuída em três copos plásticos de 200 mL de capacidade cada. Um segundo tratamento, sem UFV-TM100, foi utilizado para avaliar o desenvolvimento de *P. chlamydosporia* na ausência do UFV-TM100. O substrato em cada copo plástico foi mantido úmido e amostras foram retiradas aos 0 e 14 dias para determinar o número de UFC de *P. chlamydosporia*. Não houve diferença no número de UFC de *P. chlamydosporia* entre os tratamentos Rizomax e Rizomax + UFV-TM no período de avaliação, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* foi 61% maior aos 14 dias com relação ao 0 dia. Um quarto teste foi realizado para estudar o efeito das doses do produto Rizomax nas variáveis de crescimento da alface e no desenvolvimento de *M. javanica*. Vasos plásticos contendo 2 L de substrato receberam 36 g de UFV-TM100 e, após 15 dias, mudas de alface com 21 dias de idade foram transplantadas. Juntamente com o UFV-TM100, adicionou-se o produto Rizomax nas doses de 0, 0,36 e 0,45 g/2 Kg de substrato, as quais corresponderam a 0, 1 e 1,25% de Rizomax. O substrato em cada vaso foi infestado com 5000 ovos de *M. javanica* no mesmo dia da incorporação do UFV-TM100 e Rizomax. Como tratamento testemunha, foram testadas as mesmas doses de Rizomax, porém na ausência do UFV-TM100. Após 60 dias do transplante, avaliou-se o diâmetro da cabeça da alface (cm), o peso da matéria fresca, o peso da matéria seca, o peso do sistema radicular fresco, o número de galhas e de ovos de *M. javanica* por sistema radicular e o número de galhas e de ovos de *M. javanica* por grama de sistema radicular. Na presença do produto UFV-TM100 houve aumento de 41, 44 e 29% no diâmetro da cabeça da alface, no peso da matéria fresca da parte aérea e no peso da matéria seca da parte aérea, respectivamente. O número de galhas e ovos por grama de sistema radicular sofreram reduções de até 99% quando aplicado o UFV-TM100 + Rizomax na dose de 1,25%. A aplicação do Rizomax na ausência do UFV-TM100 também reduziu o número de galhas por sistema radicular e número de galhas por grama de sistema radicular, com reduções de 50 e 60%, respectivamente. Assim, na aplicação do fertilizante organomineral com a adição de um agente de controle biológico é uma alternativa eficiente de controle de nematoides, além de aumentar o desenvolvimento das plantas.

## ABSTRACT

ALMEIDA, Vanessa Sabioni, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2013. **Compatibility of *Pochonia chlamydosporia* with organic mineral fertilizer on the management of *Meloidogyne javanica* in lettuce.** Adviser: Silamar Ferraz.

Alternative methods that use a combination of nematophagous fungi associated with organic mineral fertilizer have been little used and shall be studied further, since they present potential for nematode control in addition to supplement fertility and improve soil biota. Moreover, there is a growing demand of the society, which has become more demanding on the use of management practices more environmentally appropriate. Thus, the objective of this work was to test the compatibility of an organic mineral fertilizer based on castor bean cake to *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica* in lettuce. Two tests were performed to study the viability of *P. chlamydosporia* in Rizomax (which contains fungus *P. chlamydosporia*), and UFV-TM100 (organic mineral fertilizer) with or without addition of water. One hundred grams of UFV-TM100 and 1 g of Rizomax were placed in a 3-L plastic bag with no addition of water. The bag was sealed and vigorously shaken until homogenization of the mixture and kept in a closed room. The determination of the CFU of *P. chlamydosporia* was carried out on days 0, 15, 30 and 45 both in pure Rizomax and Rizomax + UFV-TM100. The same methodology was used in the second test, but with the addition of water in the mixture and determination of CFU of *P. chlamydosporia* was carried out on days 0, 7 and 14. The number of CFU of *P. chlamydosporia* did not increase within the addition of water in Rizomax in the assessed period; however, the number of CFU was reduced by 27, 54 and 100% in the Rizomax + UFV-TM100 on days 0, 7 and 14, respectively, for the product Rizomax. The number of CFU of *P. chlamydosporia* in Rizomax did not decrease in the test with no addition of water, but the number of *P. chlamydosporia* in Rizomax + UFV-TM100 was reduced by 30% on day 45 in comparison to day 0, 15 and 30. A third test was conducted to study the colonization by *P. chlamydosporia* in a substrate in the presence of UFV-TM100. One litter of substrate was poured in a 5-L plastic bag containing 18 g of UFV-

TM100 and 0.18 g of Rizomax. The bag was sealed and shaken vigorously for two minutes to homogenize the mixture, which was distributed into three 200 mL plastic glasses. A second treatment, with no UFV-TM100, was used to evaluate the development of *P. chlamydosporia* in the absence of UFV-TM100. The substrate in each of the plastic glass was kept moist and samples were taken on days 0 and 14 to determine the number of CFU of *P. chlamydosporia*. The CFU number of *P. chlamydosporia* did not differ between Rizomax and Rizomax + UFV-TM treatments in the evaluation periods but the CFU number for *P. chlamydosporia* was 61% higher on day 14 than on day 0. A forth test was carried out to study the effect of the doses of Rizomax on the growth of lettuce and on the development of *M. javanica*. Plastic pots containing 2 L of substrate received 36 g of UFV - TM100, and after 15 days, lettuce seedlings at 21 days of age were transplanted. Rizomax was added together with TM100-UFV at doses of 0, 0.36 and 0.45 g/kg substrate, which corresponded to 0, 1, and 1.25% Rizomax . The substrate in each pot was infested with 5,000 eggs of *M. javanica* on same day of incorporation of UFV- TM100 and Rizomax incorporation. The same doses of Rizomax , but in the absence of UFV - TM100 were tested as control treatment. Sixty days after transplanting, the diameter of the head of lettuce (cm) , the fresh matter weight , the dry matter weight, the fresh root system weight, the number of galls and eggs of *M. javanica* per gram of root system were evaluated. The diameter of the head of the lettuce, the weight of the shooting fresh matter and the weight of shooting dry matter increased by 41, 44 and 29% , respectively, in the presence of UFV-TM100. The number of gals and eggs per gram of root system was reduced up to 99% when UFV-TM100 + Rizomax were applied at the dose of 1.25%. The application of Rizomax in the absence of UFV-TM100pla root system and the numb also reduced the number of galls per root system and the number of galls per gram of root system, with reductions of up to 50 and 60%, respectively. Therefore, the use of organic mineral fertilizer with the addition of a biological control agent is an efficient alternative to the control of nematodes, in addition to improve plant development.

## INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) tem grande importância na alimentação e saúde humana destacando-se como fonte de vitaminas e sais minerais (Oliveira et al., 2004). Representa a hortaliça mais popular tanto pelo sabor e qualidade nutritiva, pela facilidade de aquisição e produção durante todo o ano e pelo baixo custo (Ohse et al., 2001; Cometti et al., 2004), sendo ainda considerada uma planta que apresenta propriedades tranquilizantes (Viggiano, 1990).

As principais doenças da alface são as viroses, a septoriose (*Septoria lactucae*), a podridão-basal (*Sclerotinia sclerotiorum*) e o míldio (*Bremia lactucae*) (Filgueira, 2000). Embora os trabalhos de melhoramento de alface no Brasil tenham alcançado progressos significativos e contribuído para o plantio desta espécie, alguns problemas ainda persistem, entre os quais, se destacam a incidência de patógenos como os nematoides (Silva et al., 2008).

Os fitonematoides acarretam perdas na produção agrícola de 12% em média, o que corresponde a cerca de 100 bilhões de dólares por ano em todo o mundo (Sasser, 1989). Dentre os vários nematoides parasitas de plantas, os pertencentes ao gênero *Meloidogyne* destacam-se como os mais importantes pois atacam quase todas as culturas de interesse econômico (Sasser & Freckman, 1987).

Embora nematicidas químicos sejam eficazes, fáceis de aplicar e mostrem um rápido efeito, começaram a ser retirados do mercado devido a preocupações acerca da saúde pública, segurança ambiental e meio ambiente (Schneider et al., 2003). Atualmente, vem se preconizando o manejo integrado de nematoides, que busca integrar os diferentes métodos de controle tais como o uso de cultivares resistentes, rotação de culturas, aplicação de materiais orgânicos e de produtos biológicos e o uso de plantas antagonicas (Santos, 1991). Merece destaque o interesse pelo controle biológico de nematoides (Barron, 1977; Mani, 1988; Fattah, 1989).

Dentre os agentes de controle biológico de nematoides, os fungos que parasitam ovos são os que apresentam maior perspectiva de utilização, devido à facilidade de produção in vitro, e à possibilidade de algumas espécies colonizarem a rizosfera, sem prejuízo às raízes das plantas (López-Llorca et al., 2002).

O fungo *Pochonia chlamydosporia* Zare & Gams (sin. *Verticillium chlamydosporium* Goddard) é um parasita facultativo de ovos de nematoides e tem sido extensivamente investigado como um potencial agente biológico de controle de nematoides de cisto e das galhas (Kerry & Jaffee, 1997). Esse fungo é amplamente distribuído nos solos agrícolas e pode sobreviver como um saprófita na ausência de um hospedeiro de nematoides (Siddiqui & Mahmood, 1996; Kerry, 2001).

Métodos alternativos utilizando a combinação de fungos nematófagos associados a um adubo organomineral têm sido pouco utilizados e devem ser mais estudados já que apresentam potencial para o controle dos nematoides, além de suplementar a fertilidade do solo e favorecer a microbiota (Ferreira, 2008). Os fertilizantes organominerais vêm sendo utilizados pelos produtores nas mais diversas regiões agrícolas do Brasil. Na busca por insumos menos agressivos ao meio ambiente e que possibilitem o desenvolvimento de uma agricultura menos dependente de produtos industrializados vários produtos têm sido lançados no mercado (Deleito et al. 2000).

A formulação de fertilizantes organominerais é uma possibilidade inovadora de veicular resíduos orgânicos e fertilizantes minerais que podem ser utilizados pela agricultura orgânica ou convencional, de maneira a atuarem no manejo de nematoides (Kiehl, 1999). Portanto, um produto que aumente a fertilidade e a atividade biológica de um solo agrícola, que melhore as propriedades físicas e que ainda seja eficiente no controle de nematoides e outros patógenos de solo pode representar grande diferencial no mercado.

Este trabalho teve como objetivo combinar um fertilizante organomineral com o fungo *P. Chlamydosporia* para o controle de *M. javanica* na cultura da alface.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Preparo do substrato:** O substrato usado no crescimento das plantas de alface foi constituído de uma mistura de terra de barranco e areia, na proporção 1:1 (vol:vol), previamente tratado com brometo de metila na dose de  $80 \text{ cm}^3/\text{m}^3$  de substrato. Neste trabalho 1 L de substrato foi equivalente a 1 Kg de substrato.

**Obtenção e preparo do inóculo de *Meloidogyne javanica*:** O nematoide foi multiplicado em plantas de tomateiro mantidas em vasos contendo 2 L de substrato em casa de vegetação. Os ovos utilizados nos experimentos foram extraídos pela técnica de Hussey & Barker (1973) modificada por Boneti & Ferraz (1981). Assim, as raízes infectadas foram cuidadosamente lavadas em água corrente, cortadas em fragmentos de 1 a 2 cm, homogeneizadas e trituradas em liquidificador em hipoclorito de sódio a 0,5% durante 20 segundos a baixa velocidade. A suspensão resultante foi então passada por duas peneiras granulométricas sobrepostas, sendo a superior de 200 mesh (com abertura de 0,074 mm) e a inferior de 500 mesh (com abertura de 0,025 mm). A suspensão retida na última peneira foi lavada com água, recolhida em béquer com capacidade de 250 mL e usada para inocular as plantas. A concentração do inóculo foi ajustada utilizando-se a câmara de Peters para 1.000 ovos/mL de água.

**Preparo das mudas de alface:** Foram utilizadas mudas de alface (cultivar Regina de Verão) cultivadas em bandejas de isopor com 128 células contendo o substrato inerte (Plantmax<sup>®</sup>). As mudas de alface foram transplantadas com 21 dias de idade para vasos contendo 2 L de substrato como descrito anteriormente.

**Obtenção do fungo *Pochonia chlamydosporia* e do fertilizante organomineral (UFV-TM100):** O nematicida biológico Rizomax, produzido pela empresa Rizoflora Biotecnologia S. A., foi utilizado com fonte do fungo *P. chlamydosporia* (isolado Pc-10). A determinação do número de unidades formadoras de colônia (UFC) do produto Rizomax foi realizada resultando em  $5,4 \times 10^6$  UFC/g.

Uma formulação à base de torta de mamona, palha de café e fertilizantes minerais foi desenvolvida no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides e dela, outra formulação mais simples foi desenvolvida com base apenas na torta de mamona e fertilizantes minerais, com o nome de UFV-TM100, registrada como Documento de Patente no Instituto Nacional de Propriedade Industrial, nº PI0904349-7, que quando aplicado em plantas de café, pepino,

alface, tomate e banana, favoreceu o desenvolvimento dessas e apresentou ação supressora sobre a população de *Meloidogyne* spp. (Ferreira, 2008; 2012). Neste trabalho utilizou-se a dose de 18 g de UFV-TM100/kg de substrato.

**Estudo da viabilidade de *P. chlamydosporia* nos produtos Rizomax e UFV-TM100, com adição de água:** Foram adicionados em saco plástico de 3 L, 100 g de UFV-TM100 e 1 g de Rizomax (1% em relação ao volume de UFV-TM100 como descrito anteriormente). Água foi adicionada na proporção 1:1 até umedecer o produto para assegurar um ambiente propício ao crescimento de *P. chlamydosporia* no UFV-TM100. O saco foi fechado com elástico, agitado vigorosamente até homogeneização da mistura e acondicionado em câmara de crescimento a 28°C. O saco plástico utilizado continha um filtro biológico de 4 cm de diâmetro para manter o ambiente interno oxigenado. A determinação do número de UFC de *P. chlamydosporia* foi realizada aos 0, 7 e 14 dias, tanto no produto Rizomax puro como na mistura Rizomax + UFV-TM100. O tempo zero significa a coleta da amostra imediatamente após a mistura. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 × 3 (tratamentos × épocas de avaliação) com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída de um saco plástico de 3 L contendo os seguintes tratamentos: 1) UFV-TM100 mais o rizomax; 2) Somente rizomax. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade utilizando-se o software S.A.S. (S.A.S. Institute Inc., 1989, Cary, NC, EUA).

**Estudo da viabilidade de *P. chlamydosporia* nos produtos Rizomax e UFV-TM100, sem adição de água:** Foram colocados em saco plástico de 3 L, 100 g de UFV-TM100 e 1 g de Rizomax (1% da dose do fertilizante), sem adição de água. O saco foi fechado com elástico, agitado vigorosamente até homogeneização da mistura e mantido em uma sala fechada. A determinação do número de UFC de *P. chlamydosporia* foi realizada aos 0, 15, 30 e 45 dias, tanto no produto Rizomax puro como na mistura Rizomax + UFV-TM100. O tempo zero significa a coleta da amostra imediatamente após a mistura. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 × 4 (tratamentos × épocas de avaliação) com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída de um saco plástico de 3 L contendo os seguintes tratamentos: 1) UFV-TM100 mais o rizomax; 2) Somente rizomax. Os dados obtidos foram submetidos à análise de

variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade utilizando-se o software S.A.S. (S.A.S. Institute Inc., 1989, Cary, NC, EUA).

**Estudo da colonização do substrato por *P. chlamydosporia*:** Um litro de substrato preparado como descrito anteriormente, foi colocado em um saco plástico de 5 L contendo 18 g de UFV-TM100 e 0,18 g de Rizomax (1,0 % em relação ao volume de UFV-TM100 como descrito anteriormente). O saco foi fechado e agitado vigorosamente por dois minutos para homogeneizar a mistura, a qual foi distribuída em três copos plásticos de 200 mL de capacidade cada. Um segundo tratamento, sem UFV-TM100, foi utilizado para avaliar o desenvolvimento de *P. chlamydosporia*. O substrato em copo plástico foi mantido úmido utilizando-se água de torneira e amostras foram retiradas aos 0 e 14 dias, após a adição do fungo ao substrato, para determinar o número de UFC de *P. chlamydosporia*. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial  $2 \times 2$  (tratamentos  $\times$  épocas de avaliação) com três repetições. A unidade experimental foi constituída por um copo plástico de 200 mL contendo os seguintes tratamentos: 1) Substrato mais Rizomax; 2) Substrato, Rizomax mais UFV-TM100. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Efeito de doses do Rizomax nas variáveis de crescimento da alface e no desenvolvimento de *M. javanica*:** Vasos plásticos contendo 2 L de substrato preparado como descrito anteriormente receberam 36 g de UFV-TM100 (dose de UFV-TM100 equivalente a 18 g/Kg de substrato) e, após 15 dias, mudas de alface com 21 dias de idade foram transplantadas. Juntamente com o UFV-TM100, adicionou-se o produto Rizomax nas doses de 0, 0,36 e 0,45 g/2 Kg de substrato, as quais corresponderam a 0, 1 e 1,25% do produto. O substrato em cada vaso foi infestado com 5000 ovos de *M. javanica* no mesmo dia da incorporação do UFV-TM100 e Rizomax. Como tratamento testemunha, foram testadas as mesmas doses de Rizomax, porém na ausência do UFV-TM100. Após 60 dias do transplante, avaliou-se o diâmetro da cabeça da alface (cm), o peso da matéria fresca, o peso da matéria seca, o peso do sistema radicular fresco, o número de galhas e de ovos de *M. javanica* por sistema radicular e o número de galhas e de ovos de *M. javanica* por grama de sistema radicular. O delineamento experimental

foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial  $3 \times 2$  (doses de Rizomax  $\times$  presença ou ausência de UFV-TM100) com seis repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso plástico contendo uma planta de alface. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

## RESULTADOS

**Estudo da viabilidade de *P. chlamydosporia* nos produtos Rizomax e UFV-TM100, com adição de água:** Houve diferença significativa para os fatores produtos e épocas de avaliação, bem como para a interação produtos  $\times$  épocas de avaliação (Tabela 1). Não houve decréscimo do número de UFC de *P. chlamydosporia* no produto Rizomax no período estudado, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* no tratamento Rizomax + UFV-TM100 foi reduzido em 27, 54 e 100%, respectivamente, aos 0, 7 e 14 dias em relação ao tratamento Rizomax (Tabela 2). O número de UFC de *P. chlamydosporia* no produto Rizomax isoladamente foi maior aos 14 dias em relação aos 0 e 7 dias (Tabela 2). Para o tratamento Rizomax + UFV-TM100, o número de UFC de *P. chlamydosporia* foi maior aos 0 e 7 dias em relação aos 14 dias (Tabela 2).

**Estudo da viabilidade de *P. chlamydosporia* nos produtos Rizomax e UFV-TM100, sem adição de água:** Houve diferença significativa para os fatores produtos e épocas de avaliação, bem como para a interação produtos  $\times$  épocas de avaliação (Tabela 3). Não houve decréscimo do número de UFC de *P. chlamydosporia* no produto Rizomax no período estudado, porém o número de UFC de *P. chlamydosporia* no tratamento Rizomax + UFV-TM100 foi reduzido em 30% aos 45 dias em relação aos 0, 15 e 30 dias (Tabela 4). O número de UFC de *P. chlamydosporia* no tratamento Rizomax + UFV-TM100 foi reduzido em 25% ao 45 dias em relação ao tratamento Rizomax, aos 45 dias.

**Colonização do substrato por *P. chlamydosporia*:** Apenas o fator épocas de avaliação foi significativo para o número de UFC de *P. chlamydosporia* para os tratamentos Rizomax e Rizomax + UFV-TM100. O número de UFC de *P. chlamydosporia* foi 61% maior aos 14 dias com relação ao 0 dia.

**Efeito de doses do Rizomax no crescimento da alface e no desenvolvimento de *M. javanica*:** As variáveis diâmetro da cabeça da alface, peso da matéria fresca da parte aérea, peso da matéria seca da parte aérea, massa do sistema radicular fresco e número de ovos por sistema radicular foram significativas para o fator UFV-TM100 (Tabela 5). Na presença deste produto, houve aumento de 41, 44 e 29% no diâmetro da cabeça da alface, no peso da matéria fresca da parte aérea e no peso da matéria seca da parte aérea, respectivamente. Além disso, a massa do sistema radicular e o número de ovos por sistema radicular diminuíram,

respectivamente, em 53 e 100%, respectivamente, na presença do UFV-TM100 (Tabela 6).

Para as variáveis número de galhas por sistema radicular, número de galhas e número de ovos por grama de sistema radicular, houve diferença significativa para os fatores doses de Rizomax e UFV-TM100, bem como para a interação doses de Rizomax  $\times$  UFV-TM100 (Tabela 5).

O número de galhas por sistema radicular e o número de galhas e ovos por grama de sistema radicular sofreram reduções de até 99% quando aplicado o UFV-TM100 mais o Rizomax na dose de 1,25% (Tabela 7). A aplicação do Rizomax na ausência do UFV-TM100 também reduziu o número de galhas por sistema radicular e número de galhas por grama de sistema radicular, com reduções de 50 e 60%, respectivamente.

## DISCUSSÃO

No presente trabalho foi evidenciado que o fungo *P. chlamydosporia* ao entrar em contato com o fertilizante organomineral UFV-TM100, em mistura umedecida, não conseguiu colonizá-lo, havendo decréscimo de 100% de sua viabilidade após 14 dias de incubação. A umidade presente na mistura provavelmente proporcionou uma rápida decomposição da torta de mamona, constituinte do UFV-TM100. Severino et al. (2004) relatou que a rápida decomposição da torta de mamona está relacionada com seus altos teores de nutrientes, alta umidade, boa aeração e temperaturas em torno de 28°C para a atividade microbiana. A decomposição da torta de mamona resultou em uma maior disponibilidade da proteína ricina afetando a viabilidade de *P. chlamydosporia*. Em um estudo feito por Lord et al. (1994), comprovou-se que a ricina é um ingrediente ativo que inibe o crescimento micelial de fungos, inativando especificamente e irreversivelmente os ribossomos eucarióticos, impedindo a síntese protéica. A sua atividade antifúngica também foi relatada por Primavesi (1980).

A atividade antifúngica de extratos de plantas da mamona para controlar diferentes patógenos tem sido relatada por muitos pesquisadores. Makun et al. (2011) relatou que extratos obtidos da semente de mamona reduziram o crescimento micelial de *Fusarium verticillioides* e *Aspergillus flavus* in vitro, podendo ser utilizado como fungicidas protetores. Ribeiro & Bedendo (1999), trabalhando com extratos vegetais (alho, hortelã, mamona e pimenta) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da podridão de frutos de mamoeiro, obtiveram resultados de que todos os extratos demonstraram propriedades fungitóxicas a partir da concentração de 200 µg/mL, sendo que o extrato de mamona reduziu o desenvolvimento e a esporulação do patógeno. Em estudo recente conduzido no Brasil verificou-se que a incorporação, associada à cobertura plástica, de resíduos de espécies amplamente cultivadas no país, como mandioca, eucalipto e mamona, teve efeito igual ou superior ao de resíduos de brássicas no controle de fungos fitopatogênicos (Ambrósio, 2006). Bueno et al. (1990) relatou que fungos associados a substratos de formigueiros têm sido inibidos por extratos de plantas de mamona, onde a eliminação destes fungos está relacionada ao controle das formigas.

O armazenamento em sacos plásticos da mistura seca de UFV-TM100 mais o produto Rizomax, visando o estudo da viabilidade de *P. chlamydosporia*, manteve a população de *P. chlamydosporia* viável por 30 dias em níveis iguais ao do dia da mistura (Figura 1). No 45º dia de armazenamento, a população de *P. chlamydosporia* foi reduzida a 27%, em relação aos dias anteriores. Quando a mistura dos produtos foi realizada, apresentava aproximadamente  $5,6 \times 10^4$  UFC de *P. chlamydosporia*. Ao final do período de avaliação, a mistura armazenada continha  $7,0 \times 10^3$  UFC. Em trabalho similar feito por Duan et al. (2008), estudou-se a vida de prateleira de *P. chlamydosporia* por seis meses e como resultado foi obtido que a viabilidade do fungo começou a decrescer em torno dos 45 a 60 dias de armazenamento, nos ambientes com temperatura, ar e água controlados.

Muitos fatores afetam a vida de prateleira de fungos utilizados como agentes de controle biológico. Dentre esses fatores pode-se destacar os ingredientes ativos (Connick et al., 1997; Elzein et al., 2004b), aditivos (Jackson et al., 2006; Guijarro et al., 2007), o processo de secagem (Larena et al., 2003), e as condições de armazenamento (Connick et al., 1996; Elzein et al., 2004a; Hong et al., 2005; Friesen et al., 2006). A temperatura e a atividade da água são as condições de armazenamento mais importantes que afetam a vida de prateleira de um agente de controle (Connick et al., 1996; Hong et al., 2005.). O volume de ar na embalagem pode também ser importante para algumas formulações (Friesen et al., 2006; Teshler et al., 2007). Outro fator importante é o desenvolvimento do agente de controle em um substrato sólido, pois, geralmente requer muito tempo e espaço, e muitas vezes é ineficaz no quesito custo (Jenkins et al., 1998; Ye et al., 2006).

Neste trabalho o nematicida biológico Rizomax, produzido pela empresa Rizoflora Biotecnologia S. A., foi utilizado como fonte do fungo *P. chlamydosporia*. O Rizomax é um subproduto da produção do Rizotec o qual utiliza o arroz como substrato para produção de clamidósporos de *P. chlamydosporia*. Após a formação dos clamidósporos tem-se os processos de secagem e trituração, seguido pela extração dos clamidósporos. Como resíduo é obtido o Rizomax, constituído apenas de grãos de arroz moídos, micélio e conídios do fungo. A rápida perda da viabilidade de *P. chlamydosporia* na mistura UFV-TM100 mais Rizomax, sem adição de água, pode ser atribuída à presença de micélio e conídios do fungo, ao invés de clamidósporos, que são as estruturas de

resistência produzidas pelo agente de biocontrole *P. chlamydosporia*. O curto período de vida de formulações fúngicas à base de biomassa micelial é um dos obstáculos para a utilização comercial de fungos para o biocontrole de doenças. Pesquisas anteriores, no entanto, têm dado mais ênfase para a multiplicação dos isolados e a eficácia do produto do que fazer avaliações para melhorias na vida de prateleira (Stirling & Smith, 1998; Verdejo-Lucas et al., 2003).

Com o intuito de estudar a compatibilidade entre *P. chlamydosporia* e UFV-TM100 na presença de um substrato (mistura de terra de barranco e areia), foi realizado um estudo em casa de vegetação. Os resultados mostraram que *P. chlamydosporia* cresceu satisfatoriamente na presença do UFV-TM100, não diferindo do tratamento controle. Neste teste, comparado com o teste anterior (*P. chlamydosporia* + UFV-TM100, em mistura umedecida), houve compatibilidade entre o *P. chlamydosporia* e o UFV-TM100, mesmo na liberação da proteína ricina pelo UFV-TM100. Devido à presença do substrato, dois fatores podem ser considerados. A proteína ricina liberada pelo fertilizante diluiu-se na porção total do substrato, tendo menor ou nenhuma ação tóxica sobre *P. chlamydosporia*. A ricina provavelmente foi eliminada por meio de sua volatilização. De acordo com Cangemi et al. (2009) a molécula ricina possui características de baixa estabilidade térmica e solubilidade em água, podendo ser eliminada por volatilização. Um outro fator seria a existência de uma microbiota nativa na mistura substrato, *P. chlamydosporia* e UFV-TM100, que influenciou positivamente o crescimento de *P. chlamydosporia* na presença do UFV-TM100. Solos que receberam torta de mamona apresentaram atividade microbiana maior que aqueles que receberam adição de esterco bovino ou bagaço de cana. Isto deve-se à baixa relação carbono:nitrogênio apresentada pela torta de mamona e com isto acontece a liberação mais rápida de nutrientes para as plantas (Severino et al., 2004).

No estudo das doses do produto Rizomax para o controle de *M. javanica* em plantas de alface, verificou-se que a dose de 1,25% de Rizomax na presença do fertilizante organomineral UFV-TM100 reduziu o número de galhas e ovos por grama de sistema radicular em até 99%. Na ausência do UFV-TM100 o Rizomax controlou os nematoides, porém, em taxas menores, reduzindo em média 55%. Os resultados mostraram que o UFV-TM100 formulado com a dose 1,25% de Rizomax para o controle de nematoides é altamente vantajoso, porém, com vida de prateleira de até 30 dias. A mistura do UFV-TM100 mais Rizomax não pode

ter contato com a água para evitar a liberação da toxina ricina obtida da decomposição da torta de mamona.

Além de controlar os nematoides, neste trabalho o UFV-TM contribuiu para o aumento da biomassa da parte aérea e do diâmetro das plantas de alface. Ferreira (2012) testou diferentes doses do fertilizante organomineral à base de torta de mamona (UFV-TM100) para o controle de *M. javanica* em plantas de alface, pepino e banana, e *M. exigua* em café arábica, e como resultado obteve que as melhores doses do fertilizante para o controle do nematoide em cada cultura contribuíram para o desenvolvimento vegetativo das culturas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBRÓSIO, M.M.Q. 2006. Sobrevivência em microcosmo e em campo solarizado de fitopatógenos submetidos à fermentação acelerada de diferentes materiais orgânicos. 2006. 110p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- BARRON, G.L. 1977. The nematode-destroying fungi. Ontário: **Canadian Biological Publications Ltda.** Ghelph, 140p.
- BUENO, O.C.; HEBLING, B.M.J.A.; SILVA, A.; PAGNOCCA, F.C.; FERNÁNDEZ, J.B.; VIEIRA, P.C. 1990. Toxic effect of plants on leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. In: Van Der Meer RK, Jaffe K, Cedendo A. (Ed.) **Applied myrmecology: a world perspective**. San Francisco: Westview Press, p. 420-423.
- CANGEMI, J.M.; SANTOS, A.M.; NETO, S.C. 2009. A Revolução Verde da Mamona: Ricina. **Química na Nova Escola**, vol. 32, n. 1.
- CHEN, S.; DICKSON, D.W. 2004. Biological Control of Nematodes by Fungal Antagonists', in *Nematology: Advances and Perspectives*. Volume 2. Nematode Management and Utilization, eds. Z.X. Chen, S.Y. Chen, and D.W. Dickson, Cambridge, MA: **Tsinghua University Press and CABI Publishing**, pp. 656, 979-1039.
- COMETTI, N.N.; MATIAS, G.C.S.; ZONTA, E.; MARY, W.; FERNANDES, M.S. 2004. Compostos nitrogenados e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional. **Horticultura Brasileira**, 22:748-753.
- CONNICK, W.J.; DAIGLE, D.J.; BOYETTE, C.D.; WILLIAMS, K.S. 1996. Water Activity and Other Factors that Affect the Viability of *Colletotrichum truncatum* Conidia in Wheat Flourkaolin Granules ('Pesta'). **Biocontrol Science and Technology**, 6, 277-284.

- CONNICK, W.J.; JACKSON, M.A.; WILLIAMS, K.S.; BOYETTE, C.D. 1997. Stability of Microsclerotial Inoculum of *Colletotrichum truncatum* Encapsulated in Wheat Flour Kaolin Granules. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 13, 549-554.
- DELEITO, C.S.R.; CARMO, G.F.; ABBOUND, A.C.S.; FERNANDES, M.C.A. 2000. Sucessão microbiana durante o processo de fabricação do biofertilizante Agrobio. In: FERTBIO 2000. Santa Maria, RS: *Sociedade Brasileira de Ciências do Solo e da Sociedade Brasileira de Microbiologia*, CD-ROM.
- DUAN, W.; YANG, E.; XIANG, M.; LIU, X. 2008. Effect of storage conditions on the survival of two potential biocontrol agents of nematodes, the fungi *Paecilomyces lilacinus* and *Pochonia chlamydosporia*. **Biocontrol Sci Technol** 18, 605–612.
- ELZEIN, A.; KROSCHER, J.; MÜLLER-STÖVER, D. 2004a. Optimization of Storage Conditions for Adequate Shelf-Life of “Pesta” Formulation of *Fusarium oxysporum* “Foxy 2”, a Potential Mycoherbicide for Striga: Effects of Temperature, Granule Size and Water Activity. **Biocontrol Science and Technology**, 14, 545-559.
- ELZEIN, A.; KROSCHER, J.; MÜLLER-STÖVER, D. 2004b. Effects of Inoculum Type and propagule Concentration on Shelf Life of Pesta Formulations Containing *Fusarium oxysporum* Foxy 2, a Potential Mycoherbicide Agent for Striga spp.. **Biological Control**, 30, 203-211.
- FATTAH, F.A.; SALEH, H.M.; ABOUD, H.M. 1989. Parasitism of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by *Pasteuria penetrans*. Iraq. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 21, n.3, p.431-433.
- FERREIRA, P.A. 2008. Formulação de condicionador de solo para uso em covas de plantio de café, visando ao controle de *Meloidogyne exigua*. (Dissertação de Mestrado). Viçosa. **Universidade Federal de Viçosa**.

- FERREIRA, P.A. 2012. Avaliação de um fertilizante organomineral com atividade nematicida (Tese de Doutorado), Viçosa. **Universidade Federal de Viçosa**.
- FILGUEIRA, F.A.R. 2000. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: **Universidade Federal de Viçosa**, 402p. : 40 - 135, 288 – 295.
- FRIESEN, T.; HOLLOWAY, G.; HILL, G.; PUGSLEY, T. 2006. Effect of Conditions and Protectants on the Survival of *Penicillium bilaiae* during Storage. **Biocontrol Science and Technology**, 16, 89-98.
- GUIJARRO, B.; MELGAREJO, P.; DE CAL, A. 2007. Effect of Stabilizers on the Shelf-Life of *Penicillium frequentans* Conidia and their Efficacy as a Biological Agent against Peach Brown Rot. **International Journal of Food Microbiology**, 113, 117-124.
- HONG, T.D.; EDGINGTON, S.; ELLIS, R.H.; MURO, M.A.; MOORE, D. 2005. Saturated Salt Solutions for Humidity Control and the Survival of Dry Powder and Oil Formulations of *Beauveria bassiana* Conidia. **Journal of Invertebrate Pathology**, 89, 136-143.
- JACKSON, M.; ERHAN, S.; POPRAWSKI, T. 2006. Influence of Formulation Additives on the Desiccation Tolerance and Storage Stability of Blastospores of The Entomopathogenic Fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Biocontrol Science and Technology**, 16, 61-75.
- JENKINS, N.E.; HEVIEFO, G.; LANGEWALD, J.; CHERRY, A.; LOMER, C.J. 1998. Development of Mass Production Technology for Aerial Conidia for Use as Mycopesticides. **Biocontrol News and Information**, 19, 21-31N.
- KERRY, B.A.; JAFFEE, B.A. 1997. Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes. In: Wicklow DT, Söderström B, eds. *The Mycota IV Environmental and Microbial Relationships*. New York, USA: Springer-Verlag, 203–18.

- KERRY, B.R. 2001. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: Butt TM, JACKSONC, MAGANN. (ed). Fungus Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. **CAB International**, Wallingford, 380 p.
- KIEHL, E.J. 1999. Fertilizantes organominerais. Piracicaba: **Agronômica Ceres**, 146p.
- KIEWNICK, S. 2006. Effect of Temperature on Growth, Germination, Germ-Tube Extension and Survival of *Paecilomyces lilacinus* Strain 251. **Biocontrol Science and Technology**, 16, 535-546.
- LARENA, I.; DE CAL, A.; LINˆAˆN, M.; MELGAREJO, P. 2003. Drying of *Epicoccum nigrum* Conidia for Obtaining a Shelf-Stable Biological Product against Brown Rot Disease. **Journal of Applied Microbiology**, 94, 508-514.
- LEAR, B. 1959. Application of castor pomace and cropping of castor beans to soil to reduce nematode populations. *Plant Disease* 43:459-460.
- LOPES, C.A.; QUEZADO-DUVAL, A.M.; REIS, A. 2010. Doenças da Alface. Principais doenças que afetam o cultivo de alface no Brasil. **Embrapa Hortaliças**, 68 p ginas.
- LORD, M.J.; ROBERTS, M.L.; ROBERTUS, D.J. 1994. Ricin: structure, mode of action and some current applications. **The Faseb Journal**, v.8, p.201-208.
- MAKUN, H.A.; ANJORIN, S.T.; ADENIRAN, L.A.; ONAKPA, M.M.; MUHAMMAD, H.L.; OBU, O.R.; AGBOFODE, Y.V. 2011. Antifungal activities of *Jatropha curcas* and *Ricinus cumunis* seeds on *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus flavus* in yam. *J. Agric. Biol. Sci.*, v.6, p.22–27.
- MANI, A. 1988. Studies on the bacterial parasite *Pasteuria penetrans*. I. Spore viability after storage. II. Culture on citrus nematode *Tylenchulus*

*semipenetrans*. **International Nematology Network Newsletter**, Raleigh, v.5, n.1, p.24-25.

NAGESH, M.; HUSSAINI, S.S.; CHIDANANDASWAMY, B.S.; SHUBHA, M.R.; RUBY, K.M. 2007. Relationship between initial water content of the substrate and mycelial growth and sporulation of the nematophagous fungi, *Paecilomyces lilacinus* and *Pochonia chlamydosporia*. **Nematol. medit.** (2007), 35: 57-60.

OHSE, S.; DOURADO, N.D.; MANFRON, P.A.; SANTOS, O.S. 2001. Qualidade de cultivares de alface produzidas em hidroponia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 181-185.

OLIVEIRA, A.C.B.; SEDIYAMA, M.A.N.; PEDROSA, M.W.; PINHEIRO, N.C.; GARCIA, S.L.R. 2004. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, v. 26, n. 2, p. 211-217.

PRIMAVESI, A. 1980. Manejo ecológico do solo. **A agricultura em regiões tropicais**. São Paulo, SP. Livraria Nobel, 541 p.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. 1999. Efeito Inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* – Agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agrícola**, v.56, n.4.

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

SASSER, J.N. 1989. Plant parasitic nematodes: The farmer's hidden enemy. Publication Department of Plant Pathology and the Consortium for International. **Crop Protection**, 114p.

SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. p. 7-14. In: J.A. Veech and D.W. Dickson, ed. **Vistas on Nematology. Maryland: Society of Nematologists.**

- SCHNEIDER, S.M.; ROSSKOPF, E.N.; LEESCH, J.G.; CHELLEMI, D.O.; BULL, C.T.; MAZZOLA, M. 2003. Research on alternatives to methyl bromide: pre-plant and post-harvest. **Pest Manag Sci**, 59:814–826.
- SEVERINO, L.S.; COSTA, F.X.; BELTRÃO, N.E.M. 2004. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.5, n.1, p.650-655.
- SIDDIQUI, Z.A.; MAHMOOD, 1996. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. **Bioresource Technology**, 58: 229-239.
- SILVA, R.R.; GOMES, L.A.A.; MONTEIRO, A.B.; MALUF, W.R.; CARVALHO, F.J.L.S.; MASSAROTO, J.A. 2008. Linhagens de alface-crespa para o verão resistentes ao *Meloidogyne javanica* e ao vírus mosaico-da-alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 10, p. 1349-1356.
- STIRLING, G.R.; SMITH, L.J. 1998. Field Tests of Formulated Products Containing Either *Verticillium chlamydosporium* or *Arthrobotrys dactyloides* for Biological Control of Root-Knot Nematodes. **Biological Control**, 11, 231-239.
- TESHLER, M.P.; ASH, G.J.; ZOLOTAROV, Y.; WATSON, A.K. 2007. Increased Shelf Life of a Bioherbicide through Combining Modified Atmosphere Packaging and Low Temperatures. **Biocontrol Science and Technology**, 17, 387-400.
- VERDEJO, L.S.; ORNAT, C.; SORRIBAS, F.J.; STCHIGEL, A. 2002. Species of root-knot nematodes and fungal egg parasites recovered from vegetables in Almería and Barcelona, Spain. **Journal of Nematology**, 34, 405–8.
- VERDEJO, L.S.; SORRIBAS, F.J.; ORNAT, C.; GALEANO, M. 2003. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a Double-Cropping System of Lettuce and Tomato in Plastic Houses Infested with *Meloidogyne javanica*. **Plant Pathology**, 52, 521-528.

VIGGIANO, J. 1990. Produção de sementes de alface. In: Castellane, P. D.; Nicolosi, W. M.; Hasegawa, M. (Eds). **Produção de sementes de hortaliças** . Jaboticabal: FCAV/FUNEP, p.1-13.

YE, S.D.; YING, S.H.; CHEN, C.; FENG, M.G. 2006. New Solid-State Fermentation Chamber for Bulk Production of Aerial Conidia of Fungal Biocontrol Agents on Rice. **Biotechnology Letters**, 28, 799-804.

### CONCLUSÕES GERAIS

Neste trabalho comprovou-se que a mistura dos produtos Rizomax e UFV-TM100 com um substrato não interferiu no desenvolvimento de *P. chlamydosporia*. Quando a mistura Rizomax e UFV-TM100 é armazenada em sacos plásticos com adição de água o fungo perde 100% de sua viabilidade. Porém, quando a mistura é armazenada sem adição de água o fungo começa a perder sua viabilidade após 30 dias.

Foi comprovada também a eficiência da mistura do Rizomax e UFV-TM100 para o controle de *M. javanica* em alface. Porém, mais estudos devem ser conduzidos para concretizar esses resultados para que um novo produto seja lançado no mercado.

## TABELAS

**Tabela 1.** Análise de variância do efeito de produtos Rizomax e Rizomax + fertilizante orgânico mineral (P) e épocas de avaliação (EA) no número de unidades formadoras de colônia de *Pochonia chlamydosporia* nesses produtos. Armazenamento em condições de umidade.

Fontes de Variação	gl	Valores de <i>F</i>
P	1	431,20 <sup>**</sup>
EA	2	12,07 <sup>*</sup>
P × EA	2	113,80 <sup>**</sup>

Níveis de probabilidade: <sup>ns</sup> = não significativo, <sup>\*</sup> = 0,05 e <sup>\*\*</sup> = 0,01.

**Tabela 2.** Efeito de produtos × época de avaliação no número de unidades formadoras de colônia de *Pochonia chlamydosporia*. Armazenamento em condições de umidade.

Épocas de avaliação (dias)	Rizomax	Rizomax + UFV-TM100
0	5,72 Bb	4,15 Aa
7	5,03 Bb	2,33 Ab
14	8,76 Ba	0,00 Ac

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na horizontal, entre produtos, para cada época de avaliação e pela mesma letra minúscula, na vertical, entre épocas de avaliação para cada produto, não são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

**Tabela 3.** Análise de variância do efeito de produtos Rizomax e Rizomax + fertilizante orgânico mineral (P) e épocas de avaliação (EA) no número de unidades formadoras de colônia de *Pochonia chlamydosporia* nesses produtos. Armazenamento sem condições de umidade.

Fontes de Variação	gl	Valores de <i>F</i>
P	1	7,83 <sup>*</sup>
EA	3	34,92 <sup>**</sup>
P × EA	3	4,29 <sup>*</sup>

Níveis de probabilidade: <sup>ns</sup> = não significativo, <sup>\*</sup> = 0,05 e <sup>\*\*</sup> = 0,01.

**Tabela 4.** Efeito de produtos × época de avaliação no número de unidades formadoras de colônia de *Pochonia chlamydosporia*. Armazenamento sem condições de umidade.

Épocas de avaliação (dias)	Rizomax	Rizomax + UFV-TM100
0	5,07 Aa	4,90 Aa
15	4,46 Ab	4,66 Aa
30	5,28 Aa	5,12 Aa
45	4,35 Ab	3,70 Bb

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na horizontal, entre produtos, para cada época de avaliação e pela mesma letra minúscula, na vertical, entre épocas de avaliação para cada produto, não são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

**Tabela 5.** Análise de variância dos fatores fertilizante organomineral (UFV-TM100) × doses de Rizomax (D) no diâmetro da cabeça da alface (DC), peso da matéria fresca (PMF), peso da matéria seca (PMS), peso do sistema radicular (PSR), número de galhas por sistema radicular (NG), número de ovos por sistema radicular (NO), número de galhas por grama de sistema radicular (NGG) e número de ovos por grama de sistema radicular (NOG).

Fontes de variação	gl	Valores de <i>F</i>							
		DC	PMF	PMS	PSR	NG	NO	NGG	NOG
UFV-TM100	1	145.04 <sup>**</sup>	24.16 <sup>**</sup>	5.42 <sup>**</sup>	5.42 <sup>**</sup>	466.11 <sup>**</sup>	795.22 <sup>**</sup>	441.49 <sup>**</sup>	487.85 <sup>**</sup>
D	2	0.39 <sup>ns</sup>	0.80 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	33.41 <sup>**</sup>	1.62 <sup>ns</sup>	58.95 <sup>**</sup>	3.76 <sup>*</sup>
F × D	2	1.00 <sup>ns</sup>	3.08 <sup>ns</sup>	0.99 <sup>ns</sup>	0.99 <sup>ns</sup>	31.67 <sup>**</sup>	1.64 <sup>ns</sup>	52.24 <sup>**</sup>	3.83 <sup>**</sup>

Níveis de probabilidade: <sup>ns</sup> = não significativo, <sup>\*</sup> = 0,05 e <sup>\*\*</sup> = 0,01.

**Tabela 6.** Efeito do fator fertilizante organomineral (UFV-TM100) nas variáveis diâmetro da cabeça da alface (DC), peso da matéria fresca (PMF), peso da matéria seca (PMS), peso do sistema radicular (PSR) e número de ovos por sistema radicular (NO) em plantas de alface inoculadas com *Meloidogyne javanica*.

	DC	PMF	PMS	MSR	NO
-UFV-TM100	25,40 b	60,92 b	7,92 b	21,62 a	8978,40 a
+UFV-TM100	35,63 a	87,87 a	10,24 a	10,18 b	30,00 b
CV (%)	8,34	22,12	33,02	27,91	21,13

Médias seguidas pela mesma letra para cada variável não são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

**Tabela 7.** Efeito da interação fertilizante organomineral (UFV-TM100) × doses de Rizomax (D) nas variáveis número de galhas por sistema radicular (NG), número de galhas por grama de sistema radicular (NGG) e número de ovos por grama de sistema radicular (NOG).

Doses	NG		NGG		NOG	
	-UFV-TM100	+UFV-TM100	-UFV-TM100	+UFV-TM100	-UFV-TM100	+UFV-TM100
0,00	1138,00 Aa	16,67 Ba	63,59 Aa	2,16 Ba	478,63 Aa	5,72 Ba
1,00	486,00 Ab	10,67 Bb	22,81 Ab	1,36 Bb	364,50 Aa	5,95 Ba
1,25	640,67 Ab	3,67 Bc	27,05 Ab	0,44 Bc	383,77 Aa	1,32 Bb
CV (%)	27,04		26,63		26,34	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na horizontal, para os tratamentos sem e com UFV-TM100 para cada dose e pela mesma letra minúscula, na vertical, entre doses, para os tratamentos sem ou com UFV-TM100 não são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.