

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

SANDRA DALLA PASQUA

ASSOCIAÇÃO DE *Pochonia chlamydosporia* E SUBPRODUTO
SÓLIDO DA INDÚSTRIA VINÍCOLA NO CONTROLE DE
Meloidogyne javanica

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2017

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

SANDRA DALLA PASQUA

**ASSOCIAÇÃO DE *Pochonia chlamydosporia* E SUBPRODUTO
SÓLIDO DA INDÚSTRIA VINÍCOLA NO CONTROLE DE
*Meloidogyne javanica***

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2017

SANDRA DALLA PASQUA

**ASSOCIAÇÃO DE *Pochonia chlamydosporia* E SUBPRODUTO
SÓLIDO DA INDÚSTRIA VINÍCOLA NO CONTROLE DE
*Meloidogyne javanica***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Rosangela
Dalleme Giaretta

Co-Orientador: Prof. Dr. Idalmir dos
Santos

PATO BRANCO

2017

D144a Dalla Pasqua, Sandra.
Associação de *Pochonia chlamydosporia* e subproduto sólido da indústria vinícola no controle de *Meloidogyne javanica* / Sandra Dalla Pasqua. – 2017.
52 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosangela Dallemole Giaretta.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2017.
Bibliografia: f. 41 – 52.

1. Nematóide-de-galhas. 2. Controle biológico. 3. Resíduo agroindustrial.
4. Fungo nematófago. I. Giaretta, Rosangela Dallemole, orient. II. Santos, Idalmir dos, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 22. ed. 630

Ficha Catalográfica elaborada por
Maria Juçara Silveira CRB-9/1359
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 150

**ASSOCIAÇÃO DE *Pochonia chlamydosporia* E SUBPRODUTO SÓLIDO DA
INDÚSTRIA VINÍCOLA NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica***

Por

SANDRA DALLA PASQUA

Dissertação apresentada às 13 horas 30 min. do dia 24 de março de 2017 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Everaldo Antônio Lopes

UFV

Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade

UTFPR

Prof. Dr^a. Rosangela Dallemole

Giaretta

UTFPR

Orientador

Prof. Dr. Moeses Andriago Danner

Coordenador do PPGA

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa.

Dedico a todos que acreditaram em mim e me auxiliaram nesta fase tão importante, em especial a Deus por me dar forças para nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir concluir mais esta etapa em minha vida.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) e ao programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Fundação Araucária (FA) pelo apoio financeiro.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Rosangela Dallemole Giaretta, por todos os ensinamentos repassados, pela dedicação, confiança e auxílio na realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Idalmir dos Santos pelo apoio e auxílio sempre que solicitado.

À banca de avaliação da defesa, Prof. Dr. Everaldo Antônio Lopes - UFV, Prof^a. Dr^a. Rosangela Dallemole Giaretta - UTFPR e Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade - UTFPR, por aceitarem o convite.

A toda minha família, pelo carinho e incentivo para continuar com meus estudos, em especial aos meus pais Wilson e Irene pelo dom da vida e todos os ensinamentos a mim repassados. Vocês são minha base, e se cheguei onde estou foi com o apoio de vocês. Amo vocês!

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UTFPR/PB, dos quais tive a honra de conviver por esses dois anos. Obrigada a todos pela recepção, ensinamentos e pelos bons momentos que passamos juntos, saibam que jamais esquecerei de vocês. Agradeço em especial aos meus queridos companheiros de experimento: Driéli, Felipe e Patrícia por toda a ajuda, ensinamentos e por sempre estarem disponíveis para me ajudar, com certeza teria sido muito mais difícil sem a parceria de vocês. Estarei sempre à disposição para o que precisarem.

Aos meus queridos Patrícia, Driéli, Felipe e Alana, que além de colegas, se tornaram grandes amigos, dos quais levarei em meu coração para sempre. Obrigada pelos bons momentos que passamos juntos, pelas idas à padaria, Baba, Crepe, Planta Garden, pelas risadas, confidências, reações e xingamentos, enfim, por todos os momentos extraordinários que passamos, o que tornaram tudo isso mais simples e leve.

Ao meu querido namorado por ter persistido comigo durante todo esse período. Ao fim de tudo sabemos que nosso amor com certeza vale a pena, pois mesmo com a distância e desentendimentos, percebemos que nosso companheirismo e desejo de seguirmos juntos supera tudo isso. Obrigada pelo carinho, amor e cuidado que sempre demonstrou a mim. Te amo!

Aos meus amigos que mesmo na distância nunca deixaram de torcer por mim e me incentivar a persistir. Saudades de todos vocês, dos bons momentos que vivemos juntos. Vocês são muito especiais para mim!

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho. Obrigada!

RESUMO

DALLA PASQUA, Sandra. Associação de *Pochonia chlamydosporia* e subproduto sólido da indústria vinícola no controle de *Meloidogyne javanica*. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2017.

O controle biológico e a adição de matéria orgânica ao solo representam as principais alternativas para o controle do nematoide-de-galhas. Os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) sobre o desenvolvimento, *in vitro*, de *Pochonia chlamydosporia* e o efeito da associação do SSIV a esse fungo no manejo de *Meloidogyne javanica* em tomateiros, em casa de vegetação. Para avaliar o efeito direto do SSIV sobre o desenvolvimento do fungo, adicionaram-se as concentrações (0; 5; 10; e 15%) do extrato aquoso do SSIV em meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA) fundente. Em seguida, a mistura foi vertida em placas de Petri e um disco de meio de cultivo 'Corn Meal Ágar' (CMA) colonizado pelo fungo foi colocado no centro de cada placa. Em outro estudo avaliou-se o efeito dos compostos voláteis do SSIV sobre o desenvolvimento de *P. chlamydosporia*. Para isto, utilizaram-se placas de Petri bipartidas, adicionando em um dos compartimentos as concentrações do SSIV (0,000; 0,065; 0,125; 0,250; e 0,500 g placa⁻¹) e 2 mL de água destilada esterilizada placa⁻¹. No centro do outro compartimento contendo meio de cultivo BDA, adicionou-se um disco de meio de cultivo CMA colonizado pelo fungo. As placas dos dois estudos foram armazenadas em câmara de crescimento, no escuro, a 21°C. Os dois estudos foram realizados duas vezes. Após 14 dias avaliaram-se o diâmetro das colônias e a produção de conídios do fungo. O SSIV reduziu de 9 a 21% o crescimento do fungo nos dois estudos, bem como reduziu a produção de conídios no primeiro estudo. Em casa de vegetação, avaliou-se a associação do SSIV (30 g kg⁻¹ de substrato) às concentrações de *P. chlamydosporia* com clamidósporos (500; 1.500; 2.500; 3.500; 4.500; e 5.000 clamidósporos g⁻¹ de substrato) ou sem clamidósporos (2,5; 5; 10; e 15 g de inóculo do fungo kg⁻¹ de substrato). Três tratamentos foram utilizados como controle em cada ensaio: adição de *P. chlamydosporia* (5.000 clamidósporos g⁻¹ de substrato ou 15 g de inóculo do fungo kg⁻¹ de substrato), adição de SSIV (30 g do SSIV kg⁻¹ de substrato) e apenas o substrato. Em seguida, cada saco contendo 4 kg de substrato esterilizado e os respectivos tratamentos foi infestado com 6.000 ovos de *M. javanica* kg⁻¹ de substrato, homogeneizado e umedecido até 60% de capacidade de campo e armazenado por 14 dias no escuro, a 25 °C. Depois, o substrato foi transferido para vasos de polipropileno de 500 mL, e uma muda de tomateiro foi transplantada para cada vaso. Após 60 dias foram avaliados a altura, a massa da parte aérea e das raízes frescas e o número de galhas e de ovos do nematoide. A associação do SSIV ao fungo, independentemente do tipo de inóculo do fungo, potencializou o desenvolvimento dos tomateiros e o controle do nematoide. As concentrações mais indicadas do fungo para se associar ao SSIV foram 3.500 clamidósporos g⁻¹ de substrato e 15 g do inóculo sem clamidósporos kg⁻¹ de substrato, pois, além de controlarem efetivamente o nematoide, também proporcionaram o desenvolvimento dos tomateiros. Conclui-se que a associação do SSIV ao fungo *P. chlamydosporia* potencializa o manejo do nematoide-de-galhas.

Palavras-chave: Nematóide-de-galhas. Controle biológico. Resíduo agroindustrial. Fungo nematófago.

ABSTRACT

DALLA PASQUA, Sandra. Combining *Pochonia chlamydosporia* and solid wine industry by-product for the control of *Meloidogyne javanica*. 52 f. Dissertation (Master in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Area of Concentration: Crop), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2017.

The biological control and the addition of organic matter to the soil represent the main alternatives for the control of root-knot nematode. The objectives of this study were to evaluate the effect of solid wine industry by-product (SSIV) on the development, *in vitro*, of *Pochonia chlamydosporia* and the effect of combining this fungus with the SSIV on the management of *Meloidogyne javanica* in tomatoes grown in a greenhouse. To evaluate the direct effect of the SSIV on fungal development, concentrations (0, 5, 10, and 15%) of the aqueous SSIV extract were applied to potato-dextrose-agar (BDA) culture medium. The mixture was then poured into Petri dishes and a disk of 'Corn Meal Agar' (CMA) culture medium colonized by the fungus was placed in the centre of each plate. A further study evaluated the effect of volatile SSIV compounds on the development of *P. chlamydosporia*. For this, two-part Petri dishes were utilised, to one of the compartments the concentrations of SSIV (0.000, 0.065, 0.125, 0.250, and 0.500 g plate⁻¹) and 2 mL plate⁻¹ sterile distilled water were added. To the other compartment, which contained BDA culture medium, a disc of CMA culture medium colonised by the fungus was added in the centre. The plates from the two studies were stored in a growth chamber in the dark at 21 °C. The two studies were performed twice. After 14 days, the diameter of the colonies and the production of fungal conidia were evaluated. The SSIV reduced fungal growth by 9 to 21% in the two studies, and reduced conidia production in the first study. In the greenhouse, the combination of SSIV (30 g kg⁻¹ of substrate) with the concentrations of *P. chlamydosporia* with chlamyospores (500; 1,500; 2,500; 3,500; 4,500; and 5,000 chlamyospores g⁻¹ of substrate) or without chlamyospores (2.5, 5, 10, and 15 g of inoculum of fungus kg⁻¹ substrate) were evaluated. Three treatments were used as controls in each assay: the addition of *P. chlamydosporia* (5,000 chlamyospores g⁻¹ substrate or 15 g of inoculum of fungus kg⁻¹ of substrate), the addition of SSIV (30 g SSIV kg⁻¹ of substrate) and only substrate. Following this, each bag containing 4 kg of sterilised substrate and the respective treatments were infested with 6,000 *M. javanica* eggs kg⁻¹ of substrate, homogenized, moistened until 60% of field capacity and then stored for 14 days in the dark at 25 °C. The substrate was then transferred to 500 ml polypropylene pots, and one tomato seeding was transplanted into each pot. After 60 days the height, the shoot and fresh root masses, and the numbers of nematode galls and eggs were evaluated. The combination of SSIV and the fungus, independent of the type of fungal inoculum, increased the development of the tomato plants and the control of the nematodes. The fungal concentrations most recommended to combine with the SSIV were 3,500 chlamyospores g⁻¹ of substrate and 15 g of inoculum without chlamyospores kg⁻¹ of substrate, because, besides controlling effectively the nematode, they also improved the development of the tomato plants. It was concluded that the combination of SSIV and the fungus *P. chlamydosporia* improves the management of this root-knot nematode.

Keywords: Root-knot nematode. Biological control. Agroindustrial waste. Nematophagous fungi.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Diâmetro da colônia do fungo *Pochonia chlamydosporia* em meio de cultura contendo extrato aquoso do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) após 14 dias de incubação em câmara de crescimento no escuro, a 21 °C. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 29
- Figura 2 - Diâmetro da colônia do fungo *Pochonia chlamydosporia* em meio de cultura sob efeito dos compostos voláteis do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) (0; 0,065; 0,125; 0,250 e 0,250 g) após 14 dias de incubação em câmara de crescimento no escuro, a 21 °C. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Número de conídios de <i>Pochonia chlamydosporia</i> após cultivo em meio de cultura contendo extrato aquoso do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) por 14 dias no escuro, a 21 °C. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.....	30
Tabela 2 -	Número de conídios de <i>Pochonia chlamydosporia</i> após cultivo em meio de cultura sob efeito dos compostos voláteis do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) por 14 dias no escuro, a 21° C. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.....	31
Tabela 3 -	Altura e massa da parte aérea fresca (MPAF), massa da raiz fresca (MRF) de tomateiros inoculados com 3.000 ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> , após serem cultivados em solo contendo clamidósporos de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.....	31
Tabela 4 -	Número de galhas e ovos por sistema radicular e unidade formadora de colônias (UFCs) por grama de solo em tomateiros inoculados com 3.000 ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> , após serem cultivados em solo contendo clamidósporos de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.....	32
Tabela 5 -	Altura e massa da parte aérea fresca (MPAF) e massa de raiz fresca (MRF) de tomateiros inoculados com 3.000 ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> , após serem cultivados em solo contendo micélio e conídios de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.....	33
Tabela 6 -	Número de galhas e ovos por sistema radicular e unidade formadora de colônias (UFCs) por grama de solo em tomateiros inoculados com 3.000 ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> , após serem cultivados em solo contendo micélio e conídios de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.....	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 NEMATOIDE-DE-GALHAS	17
2.2 <i>Pochonia chlamydosporia</i> NO CONTROLE DO NEMATOIDE-DE-GALHAS.....	18
2.3 RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DO NEMATOIDE-DE-GALHAS	20
2.4 <i>Pochonia chlamydosporia</i> E RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DO NEMATOIDE-DE-GALHAS	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, <i>in vitro</i> , DE <i>P. chlamydosporia</i>	25
3.2 EFEITO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, <i>in vitro</i> , DE <i>P. chlamydosporia</i>	26
3.3 ASSOCIAÇÃO DO SSIV E <i>P. chlamydosporia</i> NO MANEJO DE <i>M. javanica</i> , EM CASA DE VEGETAÇÃO	26
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
4 RESULTADOS	29
4.1 EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, <i>in vitro</i> , DE <i>P. chlamydosporia</i>	29
4.2 EFEITO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, <i>in vitro</i> , DE <i>P. chlamydosporia</i>	30
4.3 ASSOCIAÇÃO DO SSIV E <i>P. chlamydosporia</i> NO MANEJO DE <i>M. javanica</i> , EM CASA DE VEGETAÇÃO	31
5 DISCUSSÃO	35
6 CONCLUSÕES	39
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

O controle biológico representa uma das principais estratégias sustentáveis para o manejo de fitonematoides (HALLMAN; DAVIES; SIKORA, 2009; COLLANGE et al., 2011). Os fungos nematófagos, parasitas de ovos e fêmeas, estão entre os agentes de biocontrole mais promissores (STIRLING et al., 2003; FERRAZ et al., 2012), por apresentarem habilidades saprofíticas, facilidade de crescimento *in vitro* (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013) e grande potencial no controle de fitonematoides (FERRAZ et al., 2012). Dentre esses fungos, *Pochonia chlamydosporia* Zare e Gams (sin. *Verticillium chlamydosporium* Goddard) tem se destacado no controle de fitonematoides (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013), principalmente do nematoide-degalhas, tanto em casa de vegetação (MOOSAVI et al., 2010; VIGGIANO; FREITAS; LOPES, 2014; PODESTÁ et al., 2016) quanto em condições de campo (DIAS-ARIEIRA et al., 2011; BONTEMPO et al., 2014; BONTEMPO et al., 2017).

Esse fungo também coloniza a superfície e o interior das raízes de várias espécies de plantas (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013), promove o crescimento de plantas (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2015) e produz clamidósporos, que são estruturas de resistência (CIANCIO et al., 2016).

A incorporação de resíduos orgânicos ao solo é outra alternativa de controle de fitonematoides. Além de suprimir a população do patógeno (STIRLING et al., 2003; LOPES et al., 2011; AOUDIA et al., 2012; RIZVI; MAHMOOD; ANSARI, 2016), tal prática também melhora as características físico-químicas e biológicas do solo (STAPLETON, 2000; SOUZA, 2004). Um resíduo orgânico com potencial de controlar os fitonematoides é o subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) (OKA; YERMIYAHU, 2002; NICO; JIMÉNEZ-DÍAZ; CASTILLO, 2004; REINER et al., 2014; REINER, 2015; REINER et al., 2016). O extrato aquoso do SSIV na concentração de 50% inibe em 62% a mobilidade e em 34% a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood (OKA; YERMIYAHU, 2002). Além disso, a incorporação do SSIV (30 g kg⁻¹ de solo) ao solo reduz em mais de 80% a reprodução de *M. javanica* em tomateiros (*Solanum lycopersicum* L.) (REINER, 2015).

Embora a incorporação isolada ao solo do SSIV (NICO; JIMÉNEZ-DÍAZ; CASTILLO, 2004; REINER et al., 2016) ou *P. chlamydosporia* seja efetiva no manejo

do nematoide-de-galhas (VIGGIANO; FREITAS; LOPES, 2014; PODESTÁ et al., 2016), é possível que a aplicação conjunta de *P. chlamydosporia* e resíduos orgânicos potencialize o controle de fitonematoides (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2010b; RADWAN et al., 2011; PODESTÁ et al., 2013). A aplicação conjunta de *P. chlamydosporia* e 4 g de farinha de semente de mamão kg⁻¹ de solo reduz em 95% o número de ovos de *M. javanica*. Por outro lado, a aplicação do fungo isoladamente reduz em apenas 61% o número de ovos do nematoide (COUTINHO et al., 2009). Em outro estudo, a associação de *P. chlamydosporia* a um composto orgânico (1 kg parcela⁻¹ de 1 m²) reduz em 54 e 66% o número de galhas e ovos de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood em pepineiro, respectivamente, enquanto o uso de apenas fungo reduz apenas 28 e 35% o número de galhas e ovos, respectivamente (ZAKARIA et al., 2013). Similarmente, a integração de *P. chlamydosporia* (5.000 clamidósporos g⁻¹ de solo) com palha de milho (50 g kg⁻¹ de solo) reduziu em 81% o número de juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. incognita* g⁻¹ de raiz de tomateiros a campo, enquanto só o resíduo orgânico reduziu apenas 56% (LUAMBANO et al., 2015).

Considerando o potencial do uso isolado de *P. chlamydosporia* ou SSIV no controle do nematoide-de-galhas e a inexistência de estudos associando a aplicação integrada de ambos, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da associação de *P. chlamydosporia* ao SSIV no manejo de *M. javanica*, em casa de vegetação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 NEMATOIDE-DE-GALHAS

Os nematoides-de-galhas (*Meloidogyne* spp. Goeldi) são patógenos habitantes do solo, parasitas obrigatórios, possuem ampla gama de hospedeiros (ABAD et al., 2003; PERRY; MOENS; STARR, 2009) e adaptabilidade a diferentes habitats (FERRAZ et al., 2012). Esse fitoparasita causa muitos prejuízos em diversas culturas de importância econômica (TAYLOR; SASSER, 1983; SIKORA; GRECO; SILVA, 2005; FERRAZ et al., 2012).

Os danos causados por esse fitonematoide são dependentes principalmente da suscetibilidade do hospedeiro (FERRAZ et al., 2012). O principal dano às raízes é a formação de galhas, que dificultam a absorção de água e nutrientes pela planta. Entretanto, os sintomas são refletidos especialmente na parte aérea, com redução no desenvolvimento, clorose e necrose das folhas, podendo causar a morte da planta (ABAD et al., 2003; FERRAZ et al., 2012). Quando atacam tubérculos como batatas, cenouras, entre outros, também podem interferir na qualidade final do produto (PERRY; MOENS; STARR, 2009). Além do efeito direto na raiz, esse fitoparasita facilita também a entrada de fungos e bactérias fitopatogênicas nas plantas (SANTOS; ESTEVES; ABRANTES, 2012).

O controle desses fitonematoides é considerado complexo e oneroso (FERRAZ et al., 2012), sendo realizado geralmente pela combinação de várias estratégias de manejo (ABAD et al., 2003). Dentre essas, o controle biológico se destaca como um dos mais promissores (FERRAZ; BROWN, 2016), por não representar riscos ao meio ambiente e aos seres humanos (FERRAZ et al., 2012).

Existem mais de 200 organismos considerados inimigos naturais dos fitonematoides (KERRY, 1990; FERRAZ; SANTOS, 1995; FREITAS et al., 2009), como nematoides predadores, tardígrados, vírus, artrópodes, ácaros, bactérias e fungos (FERRAZ; BROWN, 2016). Dentre esses, os fungos são os mais estudados (CHEN; DICKSON, 2004), principalmente os parasitas de ovos e fêmeas, por apresentarem pouca especificidade, por suas habilidades saprofiticas e por serem

facilmente produzidos em meio de cultura e promissores no manejo de fitonematoides (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013).

2.2 *Pochonia chlamydosporia* NO CONTROLE DO NEMATOIDE-DE-GALHAS

Dentre os fungos parasitas de ovos e fêmeas, *Pochonia chlamydosporia* Zare e Gams (sin. *Verticillium chlamydosporium* Goddard) representa um dos agentes biológicos mais promissores no controle de fitonematoides (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013; CIANCIO et al., 2016). Esse fungo parasita diversos gêneros de fitonematoides, como *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne & Allen, *Pratylenchus* sp. Filipjev, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne e *Helicotylenchus* sp. Steiner (WANG; RIGGIS; CRIPPEN, 2005; PÉREZ-RODRÍGUEZ et al., 2007; FREITAS et al., 2009), mas principalmente o nematoide-de-galhas (LOPES et al., 2007; TOBIN et al., 2008; BONTEMPO et al., 2014). Por exemplo, a aplicação de 20 mL da suspensão de clamidósporos (10^7 clamidósporos mL⁻¹) de *P. chlamydosporia* ao solo reduziu em 35% a massa de ovos e 40% o número de fêmeas de *M. incognita* em pepineiro (ZAKARIA et al., 2013). A rega de pepineiros com 18 g do produto comercial (Rizotec), à base de *P. chlamydosporia* L⁻¹ de água reduziu em 48% o número de galhas e ovos de *M. javanica* g⁻¹ de raiz (VIGGIANO; FREITAS; LOPES, 2014). Também, a aplicação de 4,5 g do produto comercial, à base do fungo *P. chlamydosporia* isolado Pc-10 por m², controlou em 38 e 53% o número de galhas e ovos de *M. javanica* na cultura da alface, respectivamente, em condições de campo (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2013). Em outro estudo também observou-se que a incorporação de 5.000 clamidósporos g⁻¹ de solo de *P. chlamydosporia* reduziu em 85 e 41% o número de J₂ g⁻¹ de raiz e solo, respectivamente, em condições de campo (LUAMBANO et al., 2015).

Apesar de tais resultados, em vários estudos observa-se que a eficiência deste agente de controle biológico pode ser dependente do momento de aplicação do fungo ao solo, e sua eficácia tende a melhorar com o aumento do tempo de contato do antagonista com o nematoide antes do transplântio das mudas (PODESTÁ et al., 2016). A aplicação de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* no

substrato, ainda na sementeira, aumentou em 60% o parasitismo dos ovos de *M. incognita*, em relação ao tratamento aplicado somente no transplântio das mudas (PUERTAS; HIDALGO-DÍAZ, 2009). E, a incorporação ao solo de *P. chlamydosporia* (Pc-10) 20 dias antes do transplântio dos tomateiros, também reduziu em 68 e 41% o número de galhas e 82 e 48% o número de ovos de *M. javanica*, em relação ao tratamento testemunha, no primeiro (5 g de inóculo fúngico kg⁻¹ de solo, contendo apenas micélio crescido em grãos de arroz) e segundo ensaio (3 g de inóculo kg⁻¹ de solo, equivalente a 3,01 x 10⁴ clamidósporos g⁻¹ de solo), respectivamente (PODESTÁ et al., 2016).

O desempenho desse agente de biocontrole também pode variar de acordo com o isolado utilizado (DALLEMOLE-GIARETTA, 2008; MOOSAVI et al., 2010). A patogenicidade, *in vitro*, de 36 isolados de *Pochonia* spp. variou entre 39 e 95% de ovos de *M. javanica* infectados (MOOSAVI et al., 2010). A aplicação de sete isolados de *Pochonia* spp. ao solo reduziu de 16 a 77% o número de ovos de *M. javanica* (MOOSAVI et al., 2010). A incorporação ao solo de nove isolados brasileiros de *P. chlamydosporia* mostraram-se eficientes no manejo de *M. javanica*, com redução de 60% no número de ovos do nematoide ao utilizar o isolado 10 (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2012).

O modo de ação desse agente de controle biológico ocorre por parasitismo dos ovos e fêmeas do nematoide. Antes da infecção, o fungo adere à casca do ovo, formando apressório em resposta ao contato com a superfície do ovo, e em seguida, a hifa especializada do fungo penetra pela cutícula do ovo (LOPEZ-LLORCA et al., 2002). Durante o processo de infecção, enzimas extracelulares secretadas pelo fungo destroem a membrana externa do ovo, facilitando a penetração (infecção) do fungo (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013) e a passagem de possíveis toxinas produzidas por ele, inviabilizando o embrião ou juvenil nos ovos (STIRLING, 1991). Dentre as enzimas produzidas pelo fungo *P. chlamydosporia*, encontra-se a VCP1 (uma subtilisina), substância capaz de degradar a camada lipídica dos ovos de *Meloidogyne* spp., expondo a camada de quitina (SEGERS et al., 1994; PALMA-GUERRERO et al., 2010; MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013; ESCUDERO et al., 2016). Outra enzima secretada por *P. chlamydosporia* é a SCP1 (uma serina carboxipeptidase) (LOPEZ-LLORCA et al., 2010; LARRIBA et al., 2012; ESCUDERO et al., 2016), também capaz de corromper as camadas vitelinas de quitina e a proteína dos ovos do nematoide (ESCUDERO et al., 2016).

Além de representar uma alternativa de controle biológico para os fitonematoides (LARRIBA et al., 2014), esse fungo promove o crescimento das plantas, como observado em cevada (*Hordeum vulgare* L.) (MACIA-VICENTE et al., 2009), trigo (*Triticum aestivum* L.) (MONFORT et al., 2005), tomateiro (*S. lycopersicum*) (ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2015), alface (*Lactuca sativa* L.) (DIAS-ARIEIRA et al., 2011; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2015) e pepineiro (*Cucumis sativus* L.) (VIGGIANO; FREITAS; LOPES, 2014).

Outra vantagem desse agente de biocontrole é sua capacidade de produzir clamidósporos, que são estruturas de resistência do fungo (VERDEJO-LUCAS et al., 2003; KERRY; BOURNE, 2002; CIANCIO et al., 2016). Os clamidósporos possuem reservas alimentares suficientes para permitir que o fungo se estabeleça no solo, mesmo sem a presença do nematoide ou a adição de outras fontes de energia (KERRY, 1990; MAUCLINE; KERRY; HIRSCH, 2002). Portanto, os clamidósporos são os principais propágulos utilizados como fonte de inóculo de *P. chlamydosporia* na maioria dos estudos realizados com esse agente de controle biológico (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2014). Micélio e conídios também podem ser usados como inóculo de *P. chlamydosporia*, entretanto, eles não garantem longa sobrevivência ao fungo e requerem fonte de energia suplementar (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013). Ainda assim, a depender da eficiência do isolado em colonizar ovos de nematoide, o fungo pode se estabelecer no solo e controlar o nematoide-de-galhas, quando micélio e conídios de *P. chlamydosporia* forem aplicados (MUKHTAR; PERVAZ, 2003; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2014; PODESTÁ et al., 2016).

2.3 RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DO NEMATOIDE-DE-GALHAS

Além do controle biológico, outro método que pode ser utilizado para reduzir populações de *Meloidogyne* spp. é a adição de resíduos orgânicos ao solo (LOPES et al., 2009). Esta é uma prática muito antiga na agricultura e comum em sistemas de subsistência. O potencial desses resíduos deve-se a sua capacidade de melhorar as características físico-químicas do solo, disponibilizando nutrientes, favorecendo o

crescimento das plantas e tornando-as mais tolerantes ao ataque de fitonematoides (STIRLING et al., 2003; HUANG; LI; YUAN, 2006).

Além disso, os resíduos orgânicos podem atuar diretamente sobre os fitonematoides, por meio da liberação de compostos químicos tóxicos (compostos fenólicos e nitrogenados, taninos, ácidos orgânicos, entre outros) durante a decomposição (OKA; SHAPIRA; FINE, 2007), e, ou, da ativação de mecanismos de proteção das plantas contra os fitonematoides (CHITWOOD, 2002; OKA; TKACHI; MOR, 2007; OKA, 2010; FERRAZ et al., 2012). Portanto, diversas substâncias liberadas durante a decomposição de alguns resíduos orgânicos já foram identificadas e isoladas, visando ao controle de fitonematoides (OKA, 2010). Os resíduos orgânicos também podem atuar indiretamente, favorecendo o aumento (OKA; SHAPIRA; FINE, 2007) e, ou, o estabelecimento de alguns agentes de biocontrole no solo (CANNAYANE; RAJENDRAN, 2001).

Vários resíduos orgânicos possuem ação nematicida (STIRLING et al., 2003; LOPES et al., 2005; SOUZA et al., 2006; LOPES et al., 2011; XIAO et al., 2016). A torta de nim (*Azadirachta indica* A. Juss), quando aplicada ao solo na concentração de 20 g kg⁻¹ de solo, reduz em 93% o número de ovos de *M. javanica* (LOPES et al., 2008). A incorporação de 100 g de sementes de mamão kg⁻¹ de solo pode reduzir em até 100% o número de galhas e de ovos de *M. javanica* e *M. incognita* (NEVES et al., 2008). A adição ao solo de folhas secas (5 g kg⁻¹ de solo) de mamona (*Ricinus communis* L.) reduz em 61% a população de *M. javanica* em tomateiros (LOPES et al., 2011), bem como, a adição de vermicomposto ao solo reduz em 77 e 42% o número de galhas de *M. incognita* em uma cultivar de tomateiro suscetível e resistente, respectivamente (XIAO et al., 2016). Ainda, a incorporação de 10 g do resíduo da palha de aveia (*Avena sativa* L.) decomposta planta⁻¹ reduz em 41 e 42% o número de galhas e ovos de *M. incognita*, na cultura de grão-de-bico (RIZVI; MAHMOOD; ANSARI, 2016).

Outro resíduo orgânico que apresenta potencial no controle de fitonematoides é o subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) (OKA; YERMIYAHU, 2002; RAVIV et al., 2005; COLOGNESE et al., 2014; REINER et al., 2014; REINER et al., 2016). A adição de bagaço de uva fresco (40 toneladas ha⁻¹) ao solo reduz em 46% o número de ovos de *M. incognita* g⁻¹ de raiz, em cantalupo (D'ADDABBO et al., 2000). O extrato aquoso do composto de bagaço de uva na concentração de 50% reduz em 62% a mobilidade e 34% a eclosão dos J₂, e em

98% o número de ovos de *M. javanica* (OKA; YERMIYAHU, 2002). A incorporação de SSIV (0, 25, 50, 75 e 100%) ao solo reduziu em até 34% a população final de *M. javanica* e *M. incognita*, em tomateiros (NICO; JIMÉNEZ-DÍAZ; CASTILLO, 2004). A adição de um composto orgânico (estrume de vaca + bagaço de uva) ao solo também reduz em 34 e 69% o número de galhas e de ovos de *M. javanica* em tomateiros (RAVIV et al., 2005). Ainda, a aplicação de 30 g de SSIV kg⁻¹ de solo reduz mais de 70% a população de *M. javanica* em tomateiros, em casa de vegetação (REINER, 2015) e em 85% a eclosão e a viabilidade de J₂ de *M. javanica*, *in vitro* (REINER et al., 2016).

O efeito nematicida do SSIV deve-se à presença de diversas substâncias fitoquímicas na uva (MAKRIS; BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007; RUBILAR et al., 2007), como compostos fenólicos, antocianinas, catequinas, licopeno, substâncias antioxidantes, dentre outras (CAMPOS, 2005; PEZZUTO, 2008). Essas substâncias permanecem no subproduto mesmo após o processo de vinificação, ainda que ocorram reduções nas concentrações de algumas moléculas (CAMPOS, 2005).

Os compostos fenólicos estão entre os compostos orgânicos que desempenham função importante na defesa das plantas (DÁVALOS; LASUNCIÓN, 2009), e são pesquisados por possuírem efeito sobre os fitonematoides (EL-ROKIEK; EL-NAGDI, 2011; AOUDIA et al., 2012). Os glicosídeos de flavonoides e as antocianinas estão entre os compostos mais estudados nas uvas, por possuírem ação antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena (AMICO et al., 2004).

Além disso, o SSIV é rico em nutrientes e pode ajudar na nutrição das plantas, pois contém mais de 70% dos nutrientes essenciais para as plantas (FERRARI, 2010). Devido suas características (CAMPOS, 2005; MAKRIS; BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007; RUBILAR et al., 2007; PEZZUTO, 2008; FERRARI, 2010; MACHADO et al., 2013), o SSIV é uma alternativa promissora no manejo de fitonematoides, fungos e bactérias (PAULO et al., 2011).

2.4 *Pochonia chlamydosporia* E RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DO NEMATOIDE-DE-GALHAS

O controle biológico e a incorporação de resíduos orgânicos ao solo são eficazes no controle dos fitonematoides quando utilizados isoladamente (RAVIV et al., 2005; VIGGIANO; FREITAS; LOPES, 2014; REINER et al., 2016). No entanto, quando esses dois métodos de controle são associados, eles podem potencializar o manejo desses fitoparasitas (STIRLING et al., 2003; RADWAN et al., 2011; SINGH, 2013; VILCHIS-MARTÍNEZ et al., 2013; SILVA et al., 2016). Esse fato ocorre porque, quando os fungos são aplicados conjuntamente a uma fonte de matéria orgânica, a possibilidade de estabelecimento destes microrganismos ao solo aumenta consideravelmente.

A incorporação ao solo de palha de café colonizada por *P. chlamydosporia* (20 g kg⁻¹ de solo) reduz em 46 e 71% o número de galhas e ovos de *M. javanica*, sendo que, ao utilizar apenas a palha de café, a redução do número de galhas e ovos é de apenas 32 e 42%, respectivamente (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2010a). A adição de *P. chlamydosporia* (5.000 clamidósporos g⁻¹ de solo) e fibra de coco (10 g kg⁻¹ de solo) ao solo reduz em 35 e 41% o número de galhas e ovos de *M. javanica*, respectivamente. Por outro lado, a adição apenas do fungo ao solo reduz em apenas 18 e 31% as galhas e ovos do nematoide (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2010c). Ainda, a incorporação ao solo de *P. chlamydosporia* (10 g de canjiquinha colonizada pelo fungo kg⁻¹ de solo) associado ao esterco bovino (35 g de esterco curtido kg⁻¹ de solo), reduz consideravelmente a população final de *M. javanica* em tomateiros, o que não foi observado ao utilizar o fungo isoladamente (MACHADO et al., 2013).

Ainda, a adição de uma formulação à base de torta de mamona, palha de café e fertilizantes minerais (UFV-TM100) (36 g em 2 kg de substrato) ao solo, associada ao nematicida biológico Rizomax à base de *P. chlamydosporia* (0,45 g em 2 kg de solo), reduz em 99% o número de galhas e ovos de *M. javanica* em alface. Por outro lado, quando utilizado o Rizomax isoladamente, a redução do número de galhas foi de apenas 50% (ALMEIDA, 2013). A associação de *P. chlamydosporia* e *Gracilibacillus dipsosauri* (Lawson et al.) Waino et al. a um condicionador de solo (10 g vaso⁻¹) também reduz em 48 e 18% o número de galhas e ovos de *M. javanica* em

tomateiros, sendo que ao aplicar apenas o condicionador ao solo, a redução do número de galhas e ovos foi de apenas 23 e 3%, respectivamente (PODESTÁ et al., 2013). A aplicação de 20 mL da suspensão de clamidósporos de *P. chlamydosporia*, associada a um composto orgânico (1 kg parcela⁻¹ de 1 m²), reduz em 54 e 66% o número de galhas e massa de ovos de *M. incognita* em pepineiro, respectivamente, enquanto o uso isolado do fungo reduz em apenas 35% da massa de ovos do nematoide (ZAKARIA et al., 2013). Ainda, a incorporação de *P. chlamydosporia* (5.000 clamidósporos g⁻¹ de solo) e um composto orgânico (palha de milho) (50 g kg⁻¹ de solo) ao solo reduz em 81% o número de J₂ de *M. incognita* g⁻¹ de raiz de tomateiros, sendo que, ao adicionar apenas o composto orgânico ao solo, reduz apenas 56% dos J₂ do nematoide (LUAMBANO et al., 2015).

Devido ao bom resultado e ao grande potencial do fungo *P. chlamydosporia* e do SSIV, quando utilizados individualmente, espera-se que a associação destes dois métodos possa potencializar o manejo do nematoide-de-galhas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O fungo *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (Pc-8) utilizado nos ensaios foi obtido da micoteca do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Câmpus* de Pato Branco. O SSIV foi coletado do processo de produção do vinho das variedades de uva 'Niágara Branca' e 'Niágara Rosada', de uma propriedade rural no município de Mariópolis, PR. O resíduo foi seco ao sol, até obter massa constante, moído em triturador forrageiro (Modelo TRF 650), com peneira de 3 mm acoplada, acondicionado em sacos de plástico preto e armazenado em local seco e no escuro. O SSIV passou por um processo de esterilização para seu uso nos dois estudos *in vitro*. Para isso, o subproduto foi colocado em bandeja plástica, juntamente com um frasco de vidro sem tampa, contendo algodão umedecido com 2 mL de formol. A bandeja foi hermeticamente fechada e deixada em repouso por três dias.

3.1 EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, *in vitro*, DE *P. chlamydosporia*

Para o preparo do extrato, 50 g do SSIV foram adicionados em béquer de 500 mL de capacidade, contendo 100 mL de água destilada esterilizada, e deixados em repouso por 24 horas, no escuro. A mistura foi filtrada em camada dupla de gaze, obtendo um extrato aquoso a 50%. Em seguida, o extrato foi adicionado separadamente em meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA) fundente, nas concentrações de 5; 10; e 15% e 300 μL de antibiótico L^{-1} de meio BDA. A mistura foi vertida em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, e no centro de cada placa colocou-se um disco de meio de cultivo com meal ágar (CMA) de 5 mm de diâmetro, contendo o micélio do fungo *P. chlamydosporia* previamente crescido por 15 dias.

No tratamento testemunha, o fungo foi repicado em meio de cultivo BDA, sem a presença do extrato. As placas foram vedadas e armazenadas em câmara de crescimento a 21 °C, no escuro, por 14 dias. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento.

Após os 14 dias avaliou-se, com um escalímetro, o diâmetro das colônias fúngicas, verticalmente e horizontalmente. Em seguida, adicionaram-se 15 mL de água destilada em cada placa, e com uma alça de Drigalski raspou-se o micélio do fungo. A suspensão de cada placa foi colocada em tubos de ensaio com 20 µL de lactofenol, para posterior quantificação dos conídios, tendo sido realizadas quatro contagens em câmara de Neubauer e microscópio de luz, com aumento de 100X. O estudo foi repetido duas vezes (Ensaio 1 e 2).

3.2 EFEITO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, *in vitro*, DE *P. chlamydosporia*

Para a avaliação dos compostos voláteis do SSIV sobre o desenvolvimento *in vitro* do fungo, um disco de meio de cultivo CMA de 5 mm de diâmetro, contendo o micélio do fungo *P. chlamydosporia*, previamente crescido por 15 dias, foi transferido para o centro de um dos compartimentos de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro bipartida, contendo meio de cultivo BDA com 300 µL de antibiótico L⁻¹ de meio. No outro compartimento da placa, adicionaram-se separadamente as concentrações do SSIV (0,065; 0,125; 0,250; e 0,500 g placa⁻¹) e 2 mL de água destilada esterilizada placa⁻¹. No tratamento controle colocou-se apenas o disco contendo o micélio do fungo. As placas foram vedadas e armazenadas em câmara de crescimento a 21 °C, no escuro, por 14 dias. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Em seguida, avaliaram-se o diâmetro das colônias fúngicas e o número de esporos do fungo *P. chlamydosporia*, conforme descrito no ensaio do item 3.1. O estudo foi repetido duas vezes (Ensaio 1 e 2).

3.3 ASSOCIAÇÃO DO SSIV E *P. chlamydosporia* NO MANEJO DE *M. javanica*, EM CASA DE VEGETAÇÃO

Dois tipos de inóculo de *P. chlamydosporia* foram testados, sendo um contendo clamidósporos, micélio e conídios (Estudo 1) e o outro contendo apenas

micélio e conídios do fungo (não produziu clamidósporos) (Estudo 2), ambos associados ao SSIV. Para o preparo do inóculo do fungo, cinco discos de micélio de 5 mm de diâmetro obtidos de colônia de *P. chlamydosporia*, previamente crescida em meio BDA por 15 dias, foram adicionados em sacos de polipropileno (24 cm de largura x 36 cm de comprimento), contendo 150 g de arroz e água destilada (70 e 100 mL para o preparo do inóculo com e sem clamidósporos, respectivamente) previamente autoclavados. Os sacos foram vedados e armazenados em câmara de crescimento a 25 °C, no escuro, por 21 dias, para desenvolvimento do fungo. Após, o substrato de arroz colonizado pelo fungo *P. chlamydosporia* foi colocado em bandejas plásticas e deixado em temperatura ambiente (~25 °C) para secagem, por sete dias. Uma amostra homogênea (1 g) desse arroz colonizado foi utilizada para avaliar a concentração de clamidósporos g⁻¹ de arroz e a viabilidade do fungo, quantificando as unidades formadoras de colônias (UFCs) (KERRY, 1991), em meio de cultivo BDA. Os inóculos contendo clamidósporos apresentaram 3,32 e 936 x 10⁷ UFCs do fungo g⁻¹ de arroz, nos ensaios 1 e 2, respectivamente. Já os inóculos contendo apenas micélio e conídios, apresentaram 6,01 e 6,72 x 10⁴ UFCs do fungo, nos ensaios 1 e 2, respectivamente.

Para a montagem dos ensaios, 4 kg de substrato (solo e areia, na proporção 2:1, v:v) foram colocados separadamente em saco plástico preto de 30 L de capacidade, 30 g do SSIV kg⁻¹ de substrato e arroz colonizado com *P. chlamydosporia* contendo clamidósporos (500; 1.500; 2.500; 3.500; 4.500 e 5.000 clamidósporos g⁻¹ de substrato) e sem clamidósporos (2,5; 5; 10 e 15 g kg⁻¹ de substrato). Três tratamentos foram utilizados como controle, em cada ensaio: adição de *P. chlamydosporia* (5.000 clamidósporos g⁻¹ de substrato ou 15 g kg⁻¹ de substrato), adição do SSIV (30 g do SSIV kg⁻¹ de substrato) e apenas o substrato.

O substrato de cada saco foi infestado com 6.000 ovos de *M. javanica* kg⁻¹ de substrato, homogeneizado manualmente, umedecido até 60% de capacidade de campo e armazenado por 14 dias em câmara de crescimento a 25 °C, no escuro. O substrato foi então transferido para vasos de polipropileno de 500 mL de capacidade, e uma plântula de tomate da cultivar Santa Clara de 21 dias de idade foi transplantada para cada vaso.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com oito repetições cada tratamento. Cada unidade experimental foi constituída por um vaso

contendo uma planta de tomate. Durante a condução dos ensaios, realizou-se a irrigação das plantas de acordo com a necessidade da cultura.

Os ensaios foram conduzidos duas vezes. Nos ensaios em que os clamidósporos foram usados como fonte de inóculo, as temperaturas médias foram 26,5 e 26,7 °C; as médias máximas foram 37,1 e 39,5 °C e as médias das mínimas foram 15,8 e 13,7 °C. Nos ensaios em que apenas micélio e conídios do fungo foram usados, as temperaturas médias foram 26,9 e 29,0 °C; as médias das máximas foram 35,6 e 38,9 °C e as médias das mínimas foram 18,2 e 19,1 °C.

Decorridos 60 dias do transplante dos tomateiros, avaliaram-se a altura, a massa da parte aérea fresca (MPAF), a massa da raiz fresca (MRF) e o número de galhas e de ovos do nematoide por sistema radicular. No momento da coleta dos ensaios, amostras de solo (~100 g) foram coletadas para determinação das UFCs (KERRY, 1991), em meio semi-seletivo (GASPARD; JAFFEE; FERRIS, 1990).

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Quando significativos, os dados quantitativos foram analisados por meio de análise de regressão polinomial e os dados qualitativos foram comparados pelo teste Duncan ($p < 0,05$), com o auxílio do programa computacional Assistat versão 7,7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2016). As médias do número de conídios foram comparadas ao tratamento controle, pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), pela falta de ajustamento dos dados a um modelo de regressão.

Os dados do número de conídios do segundo ensaio do item 3.1 foram transformados para $1/\sqrt{x}$, e o número de conídios do primeiro ensaio do item 3.2 e o número de ovos do segundo estudo do item 3.3 foram transformados para \sqrt{x} . Os dados de número de galhas dos dois estudos e do número de ovos do primeiro ensaio do primeiro estudo do item 3.3 foram transformados para $\log(x)$, para análise estatística, por não seguirem distribuição normal.

4 RESULTADOS

4.1 EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, *in vitro*, DE *P. chlamydosporia*

Todas as concentrações do extrato aquoso do SSIV reduziram proporcionalmente o diâmetro do crescimento micelial do fungo *P. chlamydosporia*. A maior concentração do extrato aquoso do SSIV (15%) reduziu o crescimento micelial em 21 e 14%, em relação à concentração 0, nos ensaios 1 e 2, respectivamente (Figura 1).

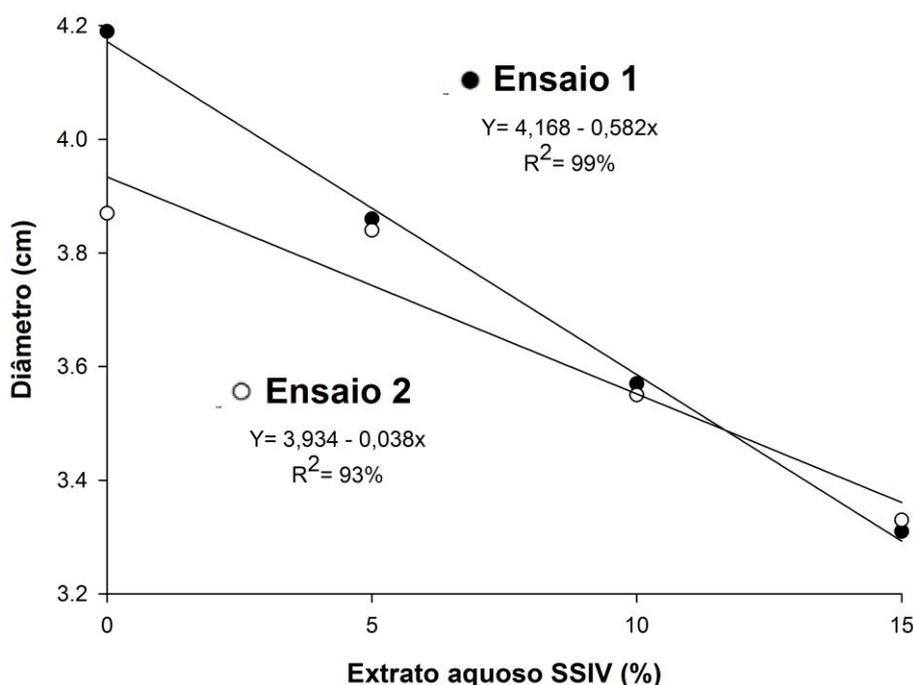


Figura 1 - Diâmetro da colônia do fungo *Pochonia chlamydosporia* em meio de cultura contendo extrato aquoso do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) após 14 dias de incubação em câmara de crescimento no escuro, a 21 °C. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Todas as concentrações do extrato aquoso de SSIV reduziram o número de conídios de *P. chlamydosporia*, com destaque para a concentração de 15%, em que reduções de 49 e 72% foram observadas nos ensaios 1 e 2, respectivamente, em relação ao controle (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de conídios de *Pochonia chlamydosporia* após cultivo em meio de cultura contendo extrato aquoso do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) por 14 dias de incubação em câmara de crescimento no escuro, a 21 °C. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Concentrações do extrato de SSIV (%)	Nº conídios placa ⁻¹ (x10 ⁶)	
	Ensaio 1	Ensaio 2
0	96,6	43,7
5	58,0*	14,5*
10	59,1*	13,6*
15	48,4*	12,2*
CV (%)	3,8	6,3

Médias de quatro repetições. *Médias que diferem do tratamento testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

4.2 EFEITO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO SSIV NO DESENVOLVIMENTO, *in vitro*, DE *P. chlamydosporia*

Os compostos voláteis de todas as concentrações do SSIV também reduziram proporcionalmente o diâmetro do crescimento micelial do fungo *P. chlamydosporia*. A maior concentração do SSIV testada reduziu o diâmetro em 9% no ensaio 1 e em 12% no ensaio 2, em relação à concentração 0 (Figura 2).

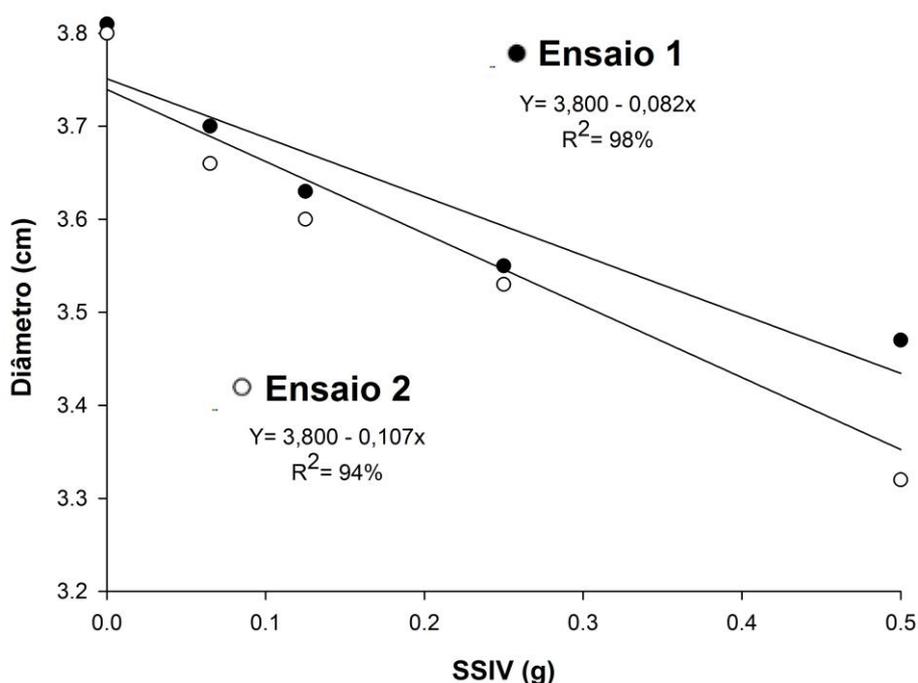


Figura 2 - Diâmetro da colônia do fungo *Pochonia chlamydosporia* em meio de cultura sob efeito dos compostos voláteis do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) (0; 0,065; 0,125; 0,250 e 0,250 g) após 14 dias de incubação em câmara de crescimento no escuro, a 21 °C. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

No entanto, quando o número de conídios do fungo *P. chlamydosporia* foi avaliado, nenhuma concentração do SSIV testada diferiu do tratamento testemunha, em ambos os ensaios (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de conídios de *Pochonia chlamydosporia* após cultivo em meio de cultura sob efeito dos compostos voláteis do subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV) por 14 dias de incubação em câmara de crescimento no escuro, a 21 °C. UTFPR, Pato Branco -PR, 2017.

Concentrações de SSIV (g)	Nº conídios placa ⁻¹ (x10 ⁶)	
	Ensaio 1	Ensaio 2
0,000	72,0 ^{ns}	44,8 ^{ns}
0,065	57,4	39,1
0,125	63,1	32,7
0,250	61,2	40,9
0,500	54,3	25,6
CV (%)	3,8	6,7

Médias de quatro repetições. ^{ns}: Não significativo pelo teste de Dunnett (p < 0,05).

4.3 ASSOCIAÇÃO DO SSIV E *P. chlamydosporia* NO MANEJO DE *M. javanica*, EM CASA DE VEGETAÇÃO

No primeiro estudo, avaliou-se a associação de SSIV e *P. chlamydosporia* aplicada na forma de clamidósporos no manejo de *M. javanica* (Tabelas 3 e 4). Nenhum tratamento alterou a altura de plantas no primeiro ensaio, enquanto a aplicação isolada de SSIV aumentou o crescimento das plantas em comparação com a testemunha, no segundo ensaio (Tabela 3).

Tabela 3 - Altura e massa da parte aérea fresca (MPAF), massa da raiz fresca (MRF) de tomateiros inoculados com 3.000 ovos de *Meloidogyne javanica*, após serem cultivados em solo contendo clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Tratamentos	Altura (cm)		MPAF (g)		MRF (g)	
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2
Testemunha	57,5 ^{ns}	50,3 bc	26,7 bc	9,0 c	11,5 a	4,3 c
5.000 clam. Pc	60,2	49,1 c	22,5 e	7,9 c	9,2 bc	3,8 c
SSIV	57,8	62,0 a	23,0 de	11,1 b	8,7 bc	7,1 b
SSIV + 500 clam. Pc	61,4	57,5 ab	22,1 e	12,9 ab	7,3 c	8,5 a
SSIV + 1.500 clam. Pc	61,3	52,9 bc	29,6 ab	10,9 b	11,6 a	7,0 b
SSIV + 2.500 clam. Pc	62,8	52,8 bc	23,5 cd	13,1 a	8,8 bc	7,9 ab
SSIV + 3.500 clam. Pc	58,5	55,2 ab	33,2 a	12,7 ab	12,5 a	7,4 ab
SSIV + 4.500 clam. Pc	63,5	54,3 ab	29,8 ab	11,6 ab	12,9 a	7,4 ab
SSIV + 5.000 clam. Pc	61,0	52,6 bc	27,1 bc	13,3 a	10,8 ab	8,3 a
CV (%)	9,9	13,1	14,0	15,6	19,1	14,9

Média de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de médias de Duncan (p < 0,05). SSIV: 30 g kg⁻¹ de solo. Clam: clamidósporos.

^{ns}: Não significativo pelo teste F (p < 0,05).

A aplicação de SSIV e 3.500 clamidósporos de *P. chlamydosporia* g⁻¹ de solo aumentou a MPAF das plantas em ambos os ensaios, em comparação com a testemunha (Tabela 3). No ensaio 1, nenhum tratamento aumentou a MRF das plantas em relação ao tratamento testemunha. No entanto, no ensaio 2, todos os tratamentos, ao associar o SSIV ao fungo, aumentaram a MRF em relação aos tratamentos testemunha e *P. chlamydosporia* isoladamente (Tabela 3).

Todos os tratamentos, em ambos os ensaios, reduziram o número de galhas e ovos de *M. javanica* por sistema radicular dos tomateiros, em relação ao tratamento testemunha. De forma geral, a combinação SSIV + 3.500 clamidósporos do fungo *P. chlamydosporia* g⁻¹ de solo foi a mais consistente em reduzir os números de ovos e de galhas em ambos os ensaios, com decréscimo entre 84 e 96% (Tabela 4).

Tabela 4 - Número de galhas e ovos por sistema radicular e unidade formadora de colônias (UFCs) por grama de solo em tomateiros inoculados com 3.000 ovos de *Meloidogyne javanica*, após serem cultivados em solo contendo clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Tratamentos	Nº galhas		Nº ovos		UFCs (x10 ³) ¹	
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2
Testemunha	656 a	565 a	141.294 a	28.137 a	-	-
5.000 clam. Pc	335 b	260 b	74.225 b	10.721 b	6,0	4,5
SSIV	128 c	89 c	42.880 c	5.728 c	-	-
SSIV + 500 clam. Pc	80 d	28 d	21.291 d	3.182 d	0,0*	0,5*
SSIV + 1.500 clam. Pc	117 c	27 d	38.839 c	3.103 d	1,2*	0,5*
SSIV + 2.500 clam. Pc	137 c	17 d	48.295 c	1.794 e	0,4*	4,2
SSIV + 3.500 clam. Pc	80 d	21 d	21.673 d	3.122 d	0,8*	3,2*
SSIV + 4.500 clam. Pc	69 d	20 d	20.723 d	2.089 e	3,4*	3,0*
SSIV + 5.000 clam. Pc	125 c	22 d	47.808 c	1.588 e	0,6*	8,2*
CV (%)	5,9	9,0	3,1	10,2	14,2	9,8

Média de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan (p < 0,05). SSIV: 30 g kg⁻¹ de solo. Clam: clamidósporos.

¹População de *Pochonia chlamydosporia* Pc-8 no solo 60 dias após o transplante das mudas de tomate, com a presença de *Meloidogyne javanica*. Média de cinco repetições. *Médias que diferem do tratamento testemunha (5.000 clam. Pc) pelo teste de Dunnett (p < 0,05).

A aplicação isolada de SSIV reduziu os números de galhas e ovos de *M. javanica* entre 69 e 84%, enquanto com o uso do fungo isoladamente, esses valores variaram entre 47 e 61%. A combinação SSIV + 3.500 clamidósporos do fungo g⁻¹ de solo apresentou efeito sinérgico em todos os ensaios, porém, a aplicação de apenas 500 clamidósporos do fungo g⁻¹ de solo juntamente com o SSIV teve efeito similar a esse tratamento (Tabela 4).

A população do fungo no solo no primeiro ensaio foi maior quando aplicado de forma isolada, enquanto no segundo ensaio a maior recuperação do antagonista

foi a partir de amostras em que o fungo foi aplicado juntamente com o SSIV, na concentração de 5.000 clamidósporos g⁻¹ de solo. De modo geral, a associação de *P. chlamydosporia* ao SSIV proporcionou redução na formação de colônias do fungo, em relação ao tratamento utilizando o fungo isolado, exceto pelos tratamentos SSIV + 2.500 e 5.000 clamidósporos do fungo g⁻¹ de solo no ensaio 2 (Tabela 4).

Em outro estudo, avaliou-se a aplicação de micélio e conídios de *P. chlamydosporia* associados ao SSIV. A aplicação combinada do SSIV com o fungo não aumentou a altura de tomateiros, em ambos os ensaios. Por outro lado, a associação do SSIV com o fungo aumentou a MPAF em até 49% no ensaio 1 e 57% no ensaio 2, quando comparados ao tratamento testemunha. A aplicação isolada do SSIV aumentou a MPAF em 24% no ensaio 1 e em 34% no ensaio 2. Todavia, o uso apenas do fungo não diferiu do tratamento testemunha. O maior acréscimo na MRF ocorreu em SSIV + 15 g de *P. chlamydosporia* kg⁻¹ de solo, variando entre 15 e 71% nos ensaios 1 e 2, respectivamente, quando comparados ao tratamento testemunha (Tabela 5).

Tabela 5 - Altura e massa da parte aérea fresca (MPAF) e massa de raiz fresca (MRF) de tomateiros inoculados com 3.000 ovos de *Meloidogyne javanica*, após serem cultivados em solo contendo micélio e conídios de *Pochonia chlamydosporia* (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Tratamentos	Altura (cm)		MPAF (g)		MRF (g)	
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2
Testemunha	52,6 ^{ns}	58,4 ab	22,3 c	16,6 c	12,3 b	9,2 d
15 g Pc	55,2	53,0 c	24,4 c	18,2 c	11,5 bc	11,2 c
SSIV	57,1	60,6 ab	27,8 b	22,4 b	10,2 c	11,1 c
SSIV + 2,5 g Pc	57,6	62,2 a	27,4 b	24,8 a	10,8 bc	12,9 bc
SSIV + 5,0 g Pc	57,5	59,3 ab	30,5 ab	25,7 a	11,2 bc	12,1 bc
SSIV + 10,0 g Pc	56,8	60,6 ab	28,7 b	26,1 a	12,2 b	13,3 b
SSIV + 15,0 g Pc	55,4	55,7 bc	33,2 a	25,4 a	14,2 a	15,8 a
CV (%)	7,9	9,5	10,8	10,0	14,4	14,2

Média de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de médias de Duncan ($p < 0,05$). SSIV: 30 g kg⁻¹ de solo.

^{ns}: Não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).

Neste estudo, novamente observou-se que a associação do SSIV ao fungo *P. chlamydosporia* reduziu o número de galhas e de ovos por sistema radicular dos tomateiros. A aplicação de SSIV + 15 g de *P. chlamydosporia* kg⁻¹ de solo reduziu entre 85 e 98% os números de galhas e ovos de *M. javanica*, em ambos os ensaios. Houve efeito sinérgico no controle do patógeno com a combinação de SSIV e arroz colonizado por *P. chlamydosporia*, nas concentrações de 5, 10 e 15 g (Tabela 6).

Tabela 6 - Número de galhas e ovos por sistema radicular e unidade formadora de colônias (UFCs) por grama de solo em tomateiros inoculados com 3.000 ovos de *Meloidogyne javanica*, após serem cultivados em solo contendo micélio e conídios de *Pochonia chlamydosporia* (Pc) e subproduto sólido da indústria vinícola (SSIV). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Tratamentos	Nº galhas		Nº ovos		UFCs (x10 ³) ¹	
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2
Testemunha	656 a	1.182 a	205.222 a	158.218 a	-	-
15 g Pc	166 b	442 b	49.826 b	68.866 b	18,2	8,8
SSIV	166 b	319 b	48.257 b	60.321 b	-	-
SSIV + 2,5 g Pc	164 b	252 b	50.593 b	62.080 b	7,2*	10,2*
SSIV + 5,0 g Pc	60 d	120 c	9.544 c	31.900 c	8,8*	11,6*
SSIV + 10,0 g Pc	101 c	118 c	10.538 c	27.032 c	10,8*	13,0*
SSIV + 15,0 g Pc	61 d	71 c	3.963 d	22.494 c	11,0*	13,2*
CV (%)	7,9	9,4	13,3	20,1	4,5	3,7

Média de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). SSIV: 30 g kg⁻¹ de solo.

¹População de *Pochonia chlamydosporia* Pc-8 no solo 60 dias após o transplante das mudas de tomate, com a presença de *Meloidogyne javanica*. Média de cinco repetições. *Médias que diferem do tratamento testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

A maior população de *P. chlamydosporia* no solo no ensaio 1 foi obtida no tratamento contendo apenas o fungo. Nesse ensaio, o SSIV também reduziu o desenvolvimento do fungo no solo, porém com aumento das UFCs proporcional ao aumento das concentrações do fungo adicionadas ao solo. No entanto, no ensaio 2, observou-se maior número de UFCs de *P. chlamydosporia* nos tratamentos contendo o SSIV associado ao fungo, com aumento também proporcional ao aumento das concentrações do fungo adicionadas ao solo (Tabela 6).

5 DISCUSSÃO

A associação de *P. chlamydosporia* com o SSIV, independentemente do tipo de inóculo utilizado, teve efeito sinérgico no controle de *M. javanica* e estimulou o desenvolvimento de tomateiros (Tabelas 3, 4, 5 e 6). Embora o fungo *P. chlamydosporia* seja um dos agentes de controle biológico mais promissores no manejo do nematoide-de-galhas (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013; CIANCIO et al., 2016), como novamente comprovado nos tratamentos contendo apenas o fungo (Tabelas 4 e 6), a associação de *P. chlamydosporia* e matéria orgânica pode potencializar o controle do nematoide (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2010a; RADWAN et al., 2011; PODESTÁ et al., 2013; SILVA et al., 2016), como constatado neste estudo ao utilizar este agente de controle biológico com o SSIV.

O efeito sinérgico do SSIV e do fungo na redução da população de *M. javanica* pode ser devido à combinação de modos de ação sobre distintas fases de vida do nematoide (MEYER; ROBERTS, 2002). O fungo *P. chlamydosporia* é parasita facultativo de ovos e fêmeas do nematoide (CIANCIO et al., 2016), capaz de produzir enzimas que destroem a membrana dos ovos do nematoide (LOPEZ-LLORCA et al., 2002; MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013), rompendo as camadas vitelinas de quitina e lipídios da casca do ovo e, conseqüentemente, causando sua desintegração e a morte de eventuais juvenis (MORGAN-JONES; WHITE; RODRÍGUEZ-KABANA, 1983; MUKHTAR; PERVAZ, 2003; MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013). Ao parasitar uma única fêmea do nematoide, o fungo consegue eliminar centenas de ovos de uma só vez (LOPEZ-LLORCA et al., 2002), reduzindo consideravelmente a reprodução do nematoide.

Em contrapartida, a composição química do SSIV inclui compostos fenólicos e nitrogenados, taninos, ácidos orgânicos, entre outros (OKA; SHAPIRA; FINE, 2007; RUBILAR et al., 2007), que possuem ação nematicida. Esses compostos não só afetam a eclosão dos J₂ do nematoide-de-galhas, bem como os matam (REINER et al., 2016). Além disso, é possível que os compostos produzidos pelo SSIV afetem a casca dos ovos do nematoide, aumentando sua suscetibilidade ao parasitismo do fungo. A associação de *P. chlamydosporia* com extratos de nim também aumentou o parasitismo de ovos pelo fungo e reduziu eficientemente o número de galhas e de ovos de *M. javanica* (MUKHTAR; AHMAD; JAVED, 2002).

Outra vantagem observada neste estudo foi que os dois tipos de inóculo de *P. chlamydosporia* (contendo clamidósporos ou apenas o micélio e conídios do fungo) apresentaram controle promissor e semelhante (Tabelas 4 e 6). Os clamidósporos são os propágulos mais eficazes para o estabelecimento do fungo no solo (VERDEJO-LUCAS et al., 2003; CIANCIO et al., 2016) e são preferencialmente utilizados como fonte de inóculo (KERRY; BOURNE, 2002). Por outro lado, os conídios e fragmentos de hifas desse fungo apresentam baixas taxas de sobrevivência no solo e são facilmente inviabilizados quando adicionados ao solo sem fonte de energia suplementar (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013), por isso, esse tipo de inóculo não é preferencialmente utilizado. Entretanto, resultados efetivos no controle do nematoide-de-galhas já foram obtidos em alguns estudos, quando apenas micélio e conídios do fungo foram incorporados (MUKHTAR; PERVAZ, 2003; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2014; PODESTÁ et al., 2016), como também observado neste estudo, quando *P. chlamydosporia* foi associado ao SSIV (Tabela 6).

O controle de *M. javanica* obtido ao utilizar o inóculo contendo apenas micélio e conídios do fungo pode ter ocorrido pelo fato de o SSIV e os grãos de arroz, onde o fungo foi repicado, terem servido de substrato para o desenvolvimento do fungo no solo. Resultados semelhantes também foram observados por Dallemole-Giaretta et al. (2014), ao avaliarem a incorporação ao solo de grãos de arroz colonizados por *P. chlamydosporia* contendo apenas micélio e conídios do fungo no controle de *M. javanica*.

No entanto, apesar dos dois tipos de inóculo de *P. chlamydosporia* terem sido eficientes no manejo do nematoide quando associados ao SSIV, bem como, quando aplicados isoladamente (Tabelas 4 e 6), ao utilizar o inóculo de *P. chlamydosporia* contendo apenas micélio e conídios do fungo é necessário adicionar maior quantidade de inóculo do fungo ao solo para obter controle semelhante. Assim, a aplicação de grãos de arroz colonizados por *P. chlamydosporia* é economicamente inviável quando aplicado em grandes áreas, sendo preferível, portanto, aplicar formulações somente à base de clamidósporos (PODESTÁ et al., 2016). Além disso, ao contrário dos conídios, os clamidósporos possuem reservas alimentares que permitem que o fungo se estabeleça no solo, mesmo sem a presença de outra fonte de energia (KERRY, 1990; MAUCLINE; KERRY; HIRSCH, 2002).

A associação de *P. chlamydosporia* com o SSIV também permitiu que ele sobrevivesse no solo, embora alguns valores tenham sido menores aos observados no tratamento contendo apenas o fungo (Tabelas 4 e 6). A redução da população do fungo no solo, obtida na maioria dos ensaios, foi devido ao efeito direto dos compostos químicos do SSIV (compostos fenólicos ácido gálico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico e o estilbeno *trans-resveratrol*) (REINER et al., 2016) e seus compostos voláteis, visto que os compostos ácido gálico e ácido cafeico já foram relatados com atividade antifúngica contra *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (NGUYEN et al., 2013) e *Fusarium graminearum* Schwabe (GAUTHIER et al., 2016), respectivamente. Além disso, nos testes *in vitro* constatou-se que o SSIV reduziu o desenvolvimento do fungo *P. chlamydosporia* (Figuras 1 e 2), o que comprova o efeito negativo do SSIV sobre o fungo.

Por outro lado, o aumento do fungo observado no segundo ensaio, em que foi testada a associação do SSIV com o micélio e os conídios do fungo, possivelmente seja devido as temperaturas elevadas registradas durante a condução desse ensaio (média de 29 °C), o que pode ter afetado o processo de mineralização do SSIV, pois o incremento na temperatura aumenta a atividade biológica e, conseqüentemente, a mineralização da matéria orgânica (BRITO et al., 2008; CHIODINI et al., 2013). Com isso, muitos dos compostos do SSIV liberados após a mineralização e decomposição do SSIV, que são prejudiciais ao desenvolvimento do fungo, podem ter sido lixiviados ou volatilizados, permitindo que o fungo se desenvolvesse normalmente no solo.

Ainda, como o SSIV é constituído de grandes quantidades de nutrientes, representa uma ótima fonte de nutrição (FERRARI, 2010), sendo capaz de promover o desenvolvimento das plantas (REINER, 2015) e torná-las mais tolerantes ao ataque de fitonematoides (STIRLING et al., 2003; HUANG; LI; YUAN, 2006), como verificado neste estudo (Tabelas 3, 4, 5 e 6). Ao utilizar apenas o SSIV incorporado ao solo, houve acréscimo no desenvolvimento dos tomateiros na maioria das variáveis avaliadas, com aumento de até 25% na MPAF e 39% na MRF, em relação ao tratamento testemunha (Tabelas 3 e 5).

O fungo *P. chlamydosporia* também estimula o crescimento de plantas (MACIA-VICENTE et al., 2009; ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2015), pois promove aumento da superfície radicular, mineralização de matéria orgânica e melhoria na aquisição de nutrientes

(KANDELER et al., 1999; BADR et al., 2006). No entanto, neste estudo constatou-se que quando o fungo foi utilizado isoladamente não houve aumento no desenvolvimento dos tomateiros (Tabelas 3 e 5), exceto para a variável MRF, no ensaio 2 (Tabela 5). Por outro lado, ao associar o fungo ao SSIV, o desenvolvimento das plantas aumentou mais de 40% na MPAF e MRF, quando comparado ao uso isolado do SSIV e de *P. chlamydosporia* (Tabelas 3 e 5), o que novamente comprova o efeito positivo da associação do fungo com o SSIV.

A aplicação de 30 g de SSIV kg⁻¹ de solo equivale a 60.000 toneladas ha⁻¹, o que representa uma quantia bem expressiva quando se refere a grandes áreas. Assim, essa é uma alternativa viável apenas para pequenas áreas, reboleiras ou para utilização em casa de vegetação. Como o SSIV é aplicado conjuntamente com *P. chlamydosporia*, sugere-se a realização de novos estudos para testar a associação da melhor concentração do fungo e menores concentrações do SSIV, com o objetivo de possivelmente encontrar uma concentração menor, mas que também apresente resultados promissores no manejo do nematoide-de-galhas.

6 CONCLUSÕES

O extrato aquoso e os compostos voláteis do SSIV reduzem o desenvolvimento do fungo *P. chlamydosporia*.

A incorporação associada do SSIV e do fungo *P. chlamydosporia* ao solo, independentemente do tipo de inóculo, aumenta o desenvolvimento vegetativo e potencializa o controle de *M. javanica* em tomateiro.

A aplicação de SSIV (30 g kg⁻¹ de solo) com 3.500 clamidósporos de *P. chlamydosporia* g⁻¹ de solo ou 15 g do inóculo contendo micélio e conídios do fungo kg⁻¹ de solo pode ser usada no manejo de *M. javanica*.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação de *P. chlamydosporia* e do SSIV representa uma alternativa para o controle dos fitonematoides, pelo elevado potencial dessas táticas de controle e por não fornecerem riscos ao meio ambiente e aos seres humanos. Além disso, ao utilizar o SSIV na agricultura, o resíduo deixa de ser problema ambiental e se torna fonte de nutriente para a agricultura, bem como fonte de renda extra para o vinicultor.

Por mais que neste estudo tenha sido comprovado o potencial da associação de *P. chlamydosporia* ao SSIV em casa de vegetação, sugere-se a realização destes estudos, também em condições de campo.

REFERÊNCIAS

ABAD, P.; FAVERY, B.; ROSSO, M. N.; CASTAGNOME-SERENO, P. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, p. 217-224, 2003.

ALMEIDA, V. S. **Compatibilidade de *Pochonia chlamydosporia* com fertilizante organomineral no manejo de *Meloidogyne javanica* em alface**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa no Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia. 60p. 2013.

AMICO, V.; NAPOLI, E. M.; RENDA, A.; RUBERTO, G.; SPATAFORA, C.; TRINGALI, C. Constituents of grape pomace from the Sicilian cultivar 'Nerello Mascalese'. **Food Chemistry**, v. 88, p. 599-607, 2004.

AOUDIA, H.; NTALLI, N.; AISSANI, N.; YAHIAOUI-ZAIDI, R.; CABONI, P. Nematotoxic phenolic compounds from *Melia azedarach* against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 11675-11680, 2012.

BADR, M. A.; SHAFEI, A. M.; SHARAF EL-DEEN, S. H. The dissolution of K and P-bearing minerals by silicate dissolving bacteria and their effect on sorghum growth. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 2, p. 5-11, 2006.

BONTEMPO, A. F.; FERNANDES, R. H.; LOPES, J.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* controls *Meloidogyne incognita* on carrot. **Plant Pathology**, v. 43, p. 421-424, 2014.

BONTEMPO, A. F.; LOPES, E. A.; FERNANDES, R. H.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R. Dose-response effect of *Pochonia chlamydosporia* against *Meloidogyne incognita* on carrot under field conditions. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 1, p. 258-262, 2017.

BRITO, L. M.; AMARO, A. L.; MOURÃO, I.; COUTINHO, J. Transformação da matéria orgânica e do nitrogênio durante a compostagem da fração sólida do chorume bovino. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 32, p. 1959-1968, 2008.

CAMPOS, L. M. A. S. **Obtenção de extratos de bagaço de uva cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*):** Parâmetros de processo e modelagem matemática. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de alimentos. 141p. 2005.

CANNAYANE, I.; RAJENDRAN, G. Application of biocontrol agents and oil cakes for the management of *Meloidogyne incognita* in brinjal (*Solanum melongena* L.). **Current Nematology**, v. 12, p. 51-55. 2001.

CHEN, S.; DICKSON, D. W. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKSON, D. W. (Eds.). **Nematology – Advances and perspectives**, v. 2: Nematodes Management and utilization. Tsinghua: University Press; CABI Publishing, 979-1039. 2004.

CHIODINI, B. M.; SILVA, A. G.; NEGREIROS, A. B.; MAGALHÃES, L. B. Matéria orgânica e a sua influência na nutrição de plantas. **Cultivando o Saber**, v. 6, n. 1, p. 181-190, 2013.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.

CIANCIO, A.; COLAGIERO, M.; PENTIMONE, I.; ROSSO, L. C. Formulation of *Pochonia chlamydosporia* for plant and nematode management. In: ARORA, N. K.; MEHNAZ, S.; BALESTRINI, R. (eds.). **Bioformulations: for Sustainable Agriculture**. p. 177-197, 2016.

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

COLOGNESE, I. C.; TURRA, E. L. C.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; REINER, D. A.; DOS SANTOS, I. **Avaliação de extrato aquoso de bagaço de uva sobre a eclosão juvenis de *Meloidogyne incognita*.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, XXXVII, Londrina. Resumos. 2014.

COUTINHO, M. M.; FREITAS, L. G.; NEVES, W. S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; OLIVEIRA, R. D. L. Incorporação de farinha de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) para o controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 162-168, 2009.

D'ADDABBO, T.; SASANELLI, N.; LAMBERTI, F.; CARELLA, A. Control of root-knot nematodes by olive and grape pomace soil amendments. **Acta Horticultura**, n. 532, 2000.

DALLEMOLE-GIARETTA, R. **Isolamento, identificação e avaliação de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de tomateiro.** Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa no Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia. 97p. 2008.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; ZOOCA, R. J. F.; CAIXETA, L. B.; LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* por meio da aplicação de palha de café colonizada por *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 137-140, 2010a.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; COUTINHO, M. M.; NEVES, W. S. ZOOCA, J. F.; FERRAZ, S. Efeito da farinha de sementes de abóbora e de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 91-97, 2010b.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; ZOOCA, R. J. F.; PODESTÁ, G. S.; CAIXETA, L. B.; FERRAZ, S. LOPES, E. A. Associação de *Pochonia chlamydosporia*, *Bacillus cereus* e fibra de coco no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 18-22, 2010c.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; PEREIRA, O. L.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**, v. 42, p. 102-107, 2012.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; CAVALLIN, I. C.; MARMENTINI, G. A.; FARIA, C. M. R.; RESENDE, J. T. V. Avaliação de um produto à base de *Pochonia chlamydosporia*, no controle de *Meloidogyne javanica* em alface e cenoura no campo. **Nematropica**, v. 43, p. 131-137, 2013.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; XAVIER, D. M.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A. Incorporação ao solo de substrato contendo micélio e conídios de *Pochonia chlamydosporia* para o manejo de *Meloidogyne javanica*. **Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 629-633, 2014.

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

DÁVALOS, A.; LASUNCIÓN, M. A. Health-promoting effects of wine phenolics. **Wine Chemistry and Biochemistry**, p. 571-591, 2009.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTANA, S. M.; DE FREITAS, L. G.; DA CUNHA, T. P. L.; BIELA, F.; PUERARI, H. H.; CHIAMOLERA, F. M. Efficiency of *P. chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 9, p. 561-563, 2011.

EL-ROKIEK, G. K.; EL-NAGDI, M. W. Dual effects of leaf extracts of *Eucalyptus citriodora* on controlling purslane and root-knot nematode in sunflower. **Journal of Plant Protection Research**, v. 51, p. 121-129, 2011.

ESCUDERO, N.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Symbiosis**, v. 57, p. 33-42, 2012.

ESCUDERO, N.; FERREIRA, S. R.; LOPEZ-MOYA, F.; NARANJO-ORTIZ, M. A.; MARIN-ORTIZ, A. I.; THORNTON, C. R.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Chitosan enhances parasitism of *Meloidogyne javanica* eggs by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal Biology**, v. 120, p. 572-585, 2016.

FERRARI, V. **A sustentabilidade da vitivinicultura através de seus próprios resíduos**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade de Caxias do Sul no curso de Bacharel em Ciências Econômica. 26p. 2010.

FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. **Revisão Anual de Proteção de Plantas**, v. 3, p. 283-314, 1995.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematóides**. 1ª reimpressão. Viçosa: UFV, 2012. 306p.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. (Orgs.). **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016.

FREITAS, L. G.; DALEMOLLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; PODESTÁ, G. S.; FERRAZ, S. Controle biológico de nematoides: estudo de casos. In: ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C. (Eds.). **Controle biológico pragas e doenças exemplos práticos**. Editora UFV, Viçosa, p. 41-82, 2009.

GASPARD, J. T.; JAFFEE, B. A.; FERRIS, H. Association of *Verticillium chlamydosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. **Journal of Nematology**, v. 22, n. 2, p. 207-213, 1990.

GAUTHIER, L.; BONNIN-VERDAL, M. N.; MARCHEGAY, G.; PINSON-GADAIS, L.; DUCOS, C.; RICHARD-FORGET, F.; ATANASOVA-PENICHON, V. Fungal biotransformation of chlorogenic and caffeic acids by *Fusarium graminearum*: New insights in the contribution of phenolic acids to resistance to deoxynivalenol accumulation in cereals. **International Journal of Food Microbiology**, n. 221, p. 61-68, 2016.

HALLMAN, J.; DAVIES, K. G.; SIKORA, R. Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds.). **Root-knot Nematodes**. CAB International, Wallingford, UK, p. 380-411, 2009.

HUANG, J.; LI, H.; YUAN, H. Effect of organic amendments on *Verticillium wilt* of cotton. **Crop Protection**, v. 25, p. 1167-1173, 2006.

KANDELER, E.; LUXHOI, J.; TSCHERKO, D.; MAGID, J. Xylanase, invertase and protease at the soil-litter interface of a loamy sand. **Soil Biology and Biochemistry**, n. 31, p. 1171-1179, 1999.

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

KERRY, B. R. Methods for studying the growth and survival of the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard, in soil. **Bulletin SROP**, v. 14, n. 2, p. 34-38, 1991.

KERRY, B. R.; BOURNE, J. M. **A manual for research on *Verticillium chlamydosporium* a potential biological control agent for root-knot nematodes**. International organization for biological control of noxious animals and plants. West Palaearctic Regional Section. Gent, Belgium, 2002. 84p.

LARRIBA, E.; MARTÍN-NIETO, J.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Gene cloning, molecular modeling, and phylogenetics of serine protease P32 and serine carboxypeptidase SCP1 from nematophagous fungi *Pochonia rubescens* and *Pochonia chlamydosporia*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 58, p. 815-827, 2012.

LARRIBA, E.; JAIME, M. D.; CARBONELL-CABALERO, J.; CONESA, A.; DOPAZO, J.; NISLOW, C.; MARTÍN-NIETO, J.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Sequencing and functional analysis of the genome of a nematode egg-parasitic fungus, *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 65, p. 69-80, 2014.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X. Efeito da incorporação da parte aérea de mucuna preta e de tomateiro sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 101-104, 2005.

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

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; FERREIRA, P. A. Controle de *Meloidogyne javanica* com diferentes quantidades de torta de nim (*Azadirachta indica*). **Revista Trópica**, v.1, n. 2, p. 17-21, 2008.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; DHINGRA, O. D.; FERREIRA, P. A.; FREITAS, L. G. Soil amendment with castor bean oilcake and jack bean seed powder to control *Meloidogyne javanica* on tomato roots. **Nematologia Brasileira**, v. 33, p. 106-109, 2009.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P. A.; FREITAS, L. G.; DALEMOLLE-GIARETTA, R. Soil amendment with chopped or ground dry leaves of six species of plants for the control of *Meloidogyne javanica* in tomato under greenhouse conditions. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 935-938, 2011.

LOPEZ-LLORCA, L. V.; OLIVARES-BERNABEU, C.; SALINAS, J.; JANSSON, H. B.; KOLATTUKUDY, P. E. Pre-penetration events in fungal parasitism of nematode eggs. **Mycological Research**, v. 106, p. 499-506, 2002.

LOPEZ-LLORCA, L. V.; GÓMEZ-VIDAL, S.; MONFORT, E.; LARRIBA, E.; CASADO-VELA, J.; ELORTZA, F.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; MARTÍN-NIETO, J. Expression of serine proteases in egg-parasitic nematophagous fungi during barley root colonization. **Fungal Genetics and Biology**, v. 47, p. 342-351, 2010.

LUAMBANO, N. D.; NARLA, R. D.; WANJOHI, W. J.; KIMENJU, J. W.; KERRY, B. R. Integrated management of root-knot nematodes in a tomato-maize crop system using the biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Crop Protection**, v. 71, p. 45-50, 2015.

MACHADO, J. C.; VIEIRA, B. S.; LOPES, E. A.; CANEDO, E. J. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e esterco bovino. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 3, p. 590-596, 2013.

MACIA-VICENTE, J. G.; ROSSO, L. C.; CIANCIO, A.; JANSSON, H. B.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: growth and disease. **Annals Applied Biology**, v. 155, p. 391-401, 2009.

MAKRIS, P. D.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, K. N. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 125-132, 2007.

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

MAUCLINE, T. H.; KERRY, B. R.; HIRSCH, P. R. Quantification in soil and the rhizosphere of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* by competitive PCR and comparison with selective plating. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 1846-1853, 2002.

MEYER, S. L. F.; ROBERTS, D. P. Combinations of biocontrol agents for management of plant-parasitic nematodes and soilborne plant-pathogenic fungi. **Journal of Nematology**, n. 34, p. 1-8, 2002.

MONFORT, E.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; PARK, J. O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonisation of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and development of root-rot. **Soil Biology Biochemistry**, v. 37, p. 1229-1235, 2005.

MOOSAVI, M. R.; ZARE, R.; ZAMANIZADEH, H. R.; FATEMY, S. Pathogenicity of *Pochonia spexies* on eggs of *Meloidogyne javanica*. **Journal of Invertebrate Pathology**, n. 104, p. 125-133, 2010.

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

MUKHTAR, T.; AHMAD, R.; JAVED, N. Control of *Meloidogyne javanica* by two antagonistic plants and a nematophagous fungus and effects of antagonistic plants on the activity of the fungus. Integrated plant disease management. **Proceedings of 3rd National Conference of Plant Pathology**, NARC, Islamabad, p. 129-132, 2002.

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

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; COUTINHO, M. M.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S. Uso de sementes de mamão e solarização do solo no controle de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 253-259, 2008.

NGUYEN, D. M. C.; SEO, D. J.; LEE, H. B.; KIM, S. IN; KIM, K. Y.; PARK, R. D.; JUNG, W. J. Antifungal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Fusarium solani*. **Microbial Pathogenesis**, v. 56, p. 8-15, 2013.

NICO, A. I.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M.; CASTILLO, P. Control of root-knot nematodes by composted agroindustrial wastes in potting mixtures. **Crop Protection**, v. 23, n. 7, p. 581-587, 2004.

OKA, Y.; YERMIYAHU, U. Suppressive effects of composts against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on tomato. **Nematology**, v. 4, n. 8, p. 891-898, 2002.

OKA, Y.; SHAPIRA, N.; FINE, P. Control of root-knot nematodes in organic farming systems by organic amendments and soil solarization. **Crop Protection**, v. 26, p. 1556-1565, 2007.

OKA, Y.; TKACHI, N.; MOR, M. Phosphite inhibits development of the nematodes *Heterodera avenae* and *Meloidogyne marylandi* in cereals. **Phytopathology**, v. 97, p. 396-404, 2007.

OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments - A review. **Applied Soil Ecology**, v. 44, p. 101-115, 2010.

PALMA-GUERRERO, J.; GÓMEZ-VIDAL, S.; TIKHONOV, V. E.; SALINAS, J.; JANSSON, H. B.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Comparative analysis of extracellular proteins from *Pochonia chlamydosporia* grown with chitosan or chitin as main carbon and nitrogen sources. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, p. 568-574, 2010.

PAULO, L.; OLEASTRO, M.; GALLARDO, E.; QUEIROZ, J. A.; DOMINGUES, F. Antimicrobial properties of resveratrol: a review. **Formatex, Microbiology Series**, v. 1, p. 1225-1235, 2011.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, I.; DOROTEO-MENDOZA, A.; FRANCO-NAVARRO, F.; SANTIAGO-SANTIAGO, V.; MONTERO-PINEDA, A. Isolates of *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* from Mexico as potential biological control agents of *Nacobbus aberrans*. **Nematropica**, v. 37, n. 1, p. 127-134, 2007.

PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. Root-knot nematodes. Wallingford, UK: **CABI Publishing**, 2009. 488p.

PEZZUTO, J. M. Grapes and Human Health: A perspective. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 56, p. 6777-6784, 2008.

PODESTÁ, G. S.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; CAIXETA, L. B.; FERRAZ, S. *Pochonia chlamydosporia*, *Gracilibacillus dipsosauri* e condicionador de solo para o controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 2, p. 122-125, 2013.

PODESTÁ, G. S.; AMORA, D. X.; MAFFIA, L. A.; NASU, E. G. C.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Effect of time between soil infestation with *Pochonia chlamydosporia* and planting on the efficacy of the fungus in managing *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**, v. 90, p. 77-83, 2016.

PUERTAS, A.; HIDALGO-DÍAZ, L. Efecto del momento de aplicación de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* sobre su eficacia em el control de *Meloidogyne incognita*. **Revista Protección Vegetal**, v. 24, n. 3, p. 177-179, 2009.

RADWAN, M. A.; ABU-ELAMAYEM, M. M.; FARRAG, S. A. A.; AHMED, N. S. Integrated management of *Meloidogyne incognita* infecting tomato using bio-agents mixed with either oxamyl or organic amendments. **Nematologia mediterrânea**, v. 39, p. 151-156, 2011.

RAVIV, M.; OKA, Y.; KATAN, J.; HADAR, Y.; YOGEV, A.; MEDINA, S.; KRASNOVSKY, A.; ZIADNA, H. High-nitrogen compost as a medium for organic container-grown crops. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 419-427, 2005.

REINER, D. A.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; DEIFELD, F.; CHIARANI, A.; COLOGNESE, I. C.; SANTOS, I. **Efeito de resíduo de uva no manejo de *Meloidogyne javanica***. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, XXXVII, Londrina. Resumos. 2014.

REINER, D. A. **Subproduto da indústria vinícola no controle de *Meloidogyne javanica***. Dissertação apresentada à Universidade Tecnológica Federal do Paraná no Programa de Pós-Graduação em Agronomia. 77p. 2015.

REINER, D. A.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; SANTOS, I.; OLDONI, T. L. C.; LOPES, E. A.; CHIARANI, A. Efeito nematocida de um subproduto da indústria vinícola em *Meloidogyne javanica* (Treb) Chitwood. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, n. 31, v. 1, p. 24-30, 2016.

RIZVI, R.; MAHMOOD, I.; ANSARI, S. Interaction between plant symbionts, bio-organic waste and antagonistic fungi in the management of *Meloidogyne incognita* infecting chickpea. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, p. 1-11, 2016.

RUBILAR, M.; PINELO, M.; SHENE, C.; SINEIRO, J.; NUÑEZ, M. J. Separation and HPLC-MS identification of phenolic antioxidants from agricultural residues: almond hulls and grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 10101-10109, 2007.

SANTOS, M. C. V.; ESTEVES, I.; ABRANTES, I. *In vitro* water stress bioassays with the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*: Effects on growth and parasitism. **Biological Control**, v. 63, p. 310-319, 2012.

SEGERS, R.; BUTT, T. M.; KERRY, B. R.; PEBERDY, J. F. The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* produces a chymoelastase-like protease which hydrolyses host nematode proteins in situ. **Microbiology**, v. 140, p. 2715-2723, 1994.

SIKORA, R. A.; GRECO, N.; SILVA, J. F. V. Nematode parasites of food legumes. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.), Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, second ed. **CAB International**, p. 259-318, 2005.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. *African Journal Agricultural Research*, v. 11, n, 39, p. 3733-3740, 2016.

SILVA, F. J.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A.; SANTOS NETO, J. A.; SOUZA, M. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias associadas a materiais orgânicos no controle de nematoides das galhas em tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 59-65, 2016.

SINGH, S. Integrated approach for the management of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, on eggplant under field conditions. **Nematology**, n. 15, p. 747-757, 2013.

SOUZA, N. L. Interação entre solarização e incorporação prévia de matéria orgânica no solo. **Summa Phytopathologica**, v. 30, n. 1, p. 142-143, 2004.

SOUZA, R. M.; NOGUEIRA, M. S.; LIMA, L. M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C. M. Manejo do nematoide das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 165-169, 2006.

STAPLETON, J. J. Soil solarization in various agricultural production systems. **Crop Protection**, v. 19, p. 837-884, 2000.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant parasitic nematodes**. Wallingford: CABI Publishing, 1991. 282 p.

STIRLING, G. R.; WILSON, E. J.; STIRLING, A. M.; PANKHURST, C. E.; MOODY, P. W.; BELL, M. J. Organic amendments enhance biological suppression of plant-parasitic nematodes in sugarcane soils. **Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologists**, v. 25, p. 11, 2003.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biología, Identificación y Control de los Nematodos de Nódulo de la Raíz**. (Especies de *Meloidogyne*). Artes gráficas de la Universidad del Estado del Carolina del Norte, Raleigh (NC) EUA, 1983. 111p.

TOBIN, J. D.; HAYDOCK, P. P. J.; HARE, M. C.; WOODS, S. R.; CRUMP, D. H. Effect of the fungus *Pochonia chlamydosporia* and fosthiazate on the multiplication rate of potato cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) in potato crops grown under UK field conditions. **Biological Control**, v. 46, p. 194-201, 2008.

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

VILCHIS-MARTÍNEZ, K.; MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; POWERS, S. J.; MONTES-BELMONT, R. Efecto de extractos vegetales en crudo en el parasitismo de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* sobre *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, v. 43, n. 2, p. 254-260, 2013.

VIGGIANO, J. R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica* in cucumber. **Biological Control**, v. 69, p. 72-77, 2014.

XIAO, Z.; LIU, M.; JIANG, L.; CHEN, X.; GRIFFITHS, B. S.; LI, H.; HU, F. Vermicompost increases defense against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato plants. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 177-186, 2016.

ZAKARIA, H. M.; KASSAB, A. S.; SHAMSELDEAN, M. M.; ORABY, M. M.; ELMOURSHEDY, M. M. F. Controlling the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in cucumber plants using some soil bioagents and some amendments under simulated field conditions. **Annals of Agricultural Science**, v. 58, n. 1, p. 77-82, 2013.

WANG, K.; RIGGIS, R. D.; CRIPPEN, D. Isolation, selection, and efficacy of *Pochonia chlamydosporia* for control of *Rotylenchulus reniformis* on cotton. **Phytopathology**, v. 95, n. 8, p. 890-893, 2005.