

**FILTRADOS DE CULTURAS FÚNGICAS E
EXTRATOS DE PLANTAS E DE ESTERCOS
ANIMAIS, COM AÇÃO ANTAGONISTA A
Meloidogyne incognita (KOFOID & WHITE)
CHITWOOD**

MAURO JUNIOR NATALINO DA COSTA

2000

MAURO JUNIOR NATALINO DA COSTA

**FILTRADOS DE CULTURAS FÚNGICAS E EXTRATOS DE PLANTAS
E DE ESTERCOS ANIMAIS, COM AÇÃO ANTAGONISTA A
Meloidogyne incognita (KOFOID & WHITE) CHITWOOD**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. **VICENTE PAULO CAMPOS**

CDD-592.182
-632.96

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2000

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Costa, Mauro Junior Natalino da

Filtrados de culturas fúngicas e extratos de plantas e de esterco animal, com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood / Mauro Junior Natalino da Costa. -- Lavras : UFLA, 2000.

115 p. : il.

Orientador: Vicente Paulo Campos.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Ação antagonista. 2. Extrato de esterco animal. 3. Extrato vegetal. 4. Controle biológico. 5. Filtrado fúngico. 6. Fitonematóide. 7. *Meloidogyne incognita*. 8. Metabólito secundário. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-595.182

-632.96

MAURO JUNIOR NATALINO DA COSTA

**FILTRADOS DE CULTURAS FÚNGICAS E EXTRATOS DE PLANTAS
E DE ESTERCOS ANIMAIS, COM AÇÃO ANTAGONISTA A
Meloidogyne incognita (KOFOID & WHITE) CHITWOOD**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 12 de Maio de 2000.

Prof. Dr. Denilson Ferreira de Oliveira - DQI/UFLA

Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning - DFP/UFLA


Prof. Dr. Vicente Paulo Campos
(Orientador)
DFP/UFLA

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2000

A Deus, pela vida e pela força na realização deste trabalho,

OFEREÇO.

**A meus pais Naide e Sebastião, pela
compreensão e confiança. A meus
irmãos Sirlene, Joelma e Silvio e a meus
sobrinhos Fábio, Valéria, Bruna, Cássia,
Fernando e Natália pelo carinho e pela
força.**

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Fitopatologia (DFP), à Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela oportunidade de realização do curso e concessão da bolsa de estudo;

Ao Orientador - professor Dr. Vicente Paulo Campos, pela atenção durante a realização dos trabalhos, demonstrando profundos conhecimentos;

Ao professor Dr. Denilson Ferreira de Oliveira, pela orientação e cessão do Laboratório de Química;

Ao professor Dr. Ludwig Heinrich Pfenning, pela orientação e conhecimentos transmitidos;

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, cujos ensinamentos tornaram possível a realização deste trabalho;

Ao professor Júlio Sílvio de Sousa Bueno Filho e à Maria Cristina Duarte Rios, pelos auxílios prestados na realização das análises estatísticas;

Ao técnico e colega de curso Cléber Maximiniano, pelas sugestões;

Ao funcionário Tarley Luiz de Paula, cujo exemplo de alegria e dedicação jamais serão esquecidos;

Aos colegas de curso Fábio, Geraldo, Leonardo e Marcos Roberto, cuja convivência tornou melhor a realização deste trabalho;

Aos demais colegas Andrei, Cacilda, João, Rose e Sônia, pelas sugestões;

Aos graduandos Anderson, Daniel, Fernanda, Fernando, Paulo, Régis, Rodrigo e Valdinei, pelo auxílio na realização dos experimentos;

Aos demais membros do Departamento de Fitopatologia, que contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

MAURO JUNIOR NATALINO DA COSTA, filho de Sebastião Balbino da Costa e de Naide Izabel Marques da Costa, nasceu em 03 de fevereiro de 1973, no município de Juruáia, estado de Minas Gerais (MG).

Em março de 1993 ingressou na Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), em Lavras, MG; acompanhou o seu processo de transformação em Universidade Federal de Lavras (UFLA) em 15 de dezembro de 1994, e obteve o título de Engenheiro Agrônomo no dia 24 de janeiro de 1998. Em agosto de 1995 ingressou no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), com pesquisas desenvolvidas na área de controle biológico e manejo de fitonematóides, concedido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela UFLA, sob a orientação do Professor Dr. Vicente Paulo Campos, permanecendo até dezembro de 1997.

Em março de 1998 iniciou o curso de Pós-Graduação em Agronomia, na UFLA, concentrando os seus estudos na área de Fitopatologia, sob a orientação do Professor Dr. Vicente Paulo Campos.

Em 12 de maio de 2000, submeteu-se à defesa de dissertação para a obtenção do título de "Mestre".

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	i
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 Produção de metabólitos secundários e utilização pelo homem.....	6
2.2 Metabólitos fúngicos tóxicos a fitonematóides.....	8
2.2.1 Procedimento para obtenção de filtrados fúngicos e testes <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	9
2.2.2 Moléculas caracterizadas.....	16
2.3 Metabólitos vegetais tóxicos a fitonematóides.....	17
2.3.1 Procedimentos para obtenção de extratos vegetais.....	20
2.3.2 Efeito tóxico de extratos vegetais em fitonematóides.....	20
2.3.3 Moléculas caracterizadas.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Produção de inóculo de <i>Meloidogyne incognita</i>	30
3.2 Isolamento de fungos.....	31
3.3 Amostragem de plantas e de esterco.....	37
3.4 Obtenção de filtrados e de extratos vegetais, de esterco animais e de micélios fúngicos.....	38
3.5 Desinfestação superficial de ovos e juvenis do segundo estágio (J2).....	40
3.6 Efeitos de filtrados fúngicos e de extratos na eclosão, motilidade e na mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2).....	42
3.7 Tempo de exposição de ovos e juvenis do segundo estágio (J2) aos filtrados fúngicos ou aos extratos.....	43
3.8 Tempo de incubação de <i>Paecilomyces lilacinus</i> para produção de filtrado.....	44
3.9 Efeito da diluição de filtrados fúngicos e de extratos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2).....	45
3.10 Efeitos de filtrados fúngicos e de extratos concentrados na patogenicidade e na reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> em tomateiros (<i>Lycopersicon esculentum</i>), cultivados em casa-de-vegetação.....	45
3.11 Análise de variância.....	49
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1 Efeito de filtrados fúngicos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> e na patogenicidade desse nematóide em tomateiros.....	50

4.1.1 Eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)	50
4.1.2 Tempo de exposição de ovos e juvenis do segundo estágio (J2) ..	53
4.1.3 Tempo de incubação de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	55
4.1.4 Efeito da diluição de filtrados fúngicos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)	57
4.1.5 Extratos obtidos a partir de micélios fúngicos pela extração com metanol	59
4.1.6 Patogenicidade e reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> em tomateiros (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cultivados em casa-de-vegetação ..	60
4.2 Efeito de extratos de plantas e de esterco animais na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> e na patogenicidade desse nematóide em tomateiros	63
4.2.1 Eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)	63
4.2.2 Tempo de exposição de ovos e juvenis do segundo estágio (J2) ..	67
4.2.3 Efeito da diluição de extratos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)	69
4.2.4 Patogenicidade e reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i> em tomateiros (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cultivados em casa-de-vegetação.	71
5 CONCLUSÕES	75
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS	94
ANEXO A	94
ANEXO B	95
ANEXO C	104

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	ágar-água
Abstr.	abstract;
Al	alumínio;
Ca	cálcio;
CH ₃ COOH	ácido acético;
cm	centímetro;
CTC	Capacidade de Troca de Cátions;
cv.	cultivar;
DBC	Delineamento em Blocos Casualizados;
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado;
DNA	Ácido Desoxirribonucleico;
DQI	Departamento de Química;
ed.	editor;
et al.	e outros;
etc.	et cetera (e assim por diante);
F	teste de F (análise de variância);
g	grama (peso);
G.L.	Grau de Liberdade
h	hora;
H ₂ O	água;
Hg	mercúrio;
J2	juvenis do segundo estágio de nematóides;
K	potássio;
kg	quilograma;
L	litro;

m³	metro cúbico;
MA	malte-ágar
Mar.	March;
Mg	magnésio;
mg	miligrama;
min	minuto;
mL	mililitro;
mm	milímetro;
mmol.c.dm⁻³	milimol de carga por decímetro cúbico;
N	nitrogênio;
nº	número;
NOS	número de ovos no sistema radicular;
Nov.	November;
OA	oatmeal-agar;
°C	graus centígrados;
P	fósforo;
p/p	peso/peso;
PDA	potato-dextrose-agar;
PF	peso fresco de plantas;
pH	logarítmo do inverso da atividade do íon hidrogênio de um solo;
ppm	parte por milhão;
Prob.>F	probabilidade maior que F;
r	coeficiente de correlação;
R²	coeficiente de determinação;
RNA	Ácido Ribonucleico;
s	segundo;

SNA	synthetic-nutrient-agar;
sp.	espécie;
spp.	espécies;
Subgen.	subgênero;
V	% de saturação de bases;
v.	volume (literário);
v/v	volume/volume (medida);
var.	variedade;
%	percentagem;
μm	micrômetro;
≤	menor ou igual;

RESUMO

COSTA, Mauro Junior Natalino da. **Filtrados de culturas fúngicas e extratos de plantas e de esterco animais, com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood.** Lavras: UFLA, 2000. 115p. (Dissertação – Mestrado em Fitopatologia)*.

Várias moléculas orgânicas afetam fitonematóides na sua ontogenia, no processo de reconhecimento do hospedeiro, ou mesmo alteram a resposta das plantas ao parasitismo, resultando sempre redução das suas populações. Na busca por novas moléculas nematicidas, dezoito filtrados de espécies fúngicas e extratos de sete micélios fúngicos, doze espécies de plantas e de três esterco animais foram estudados quanto ao seu efeito inibidor sobre a eclosão e a motilidade, e no aumento da mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita in vitro*. Cinco filtrados fúngicos e sete extratos de plantas e de esterco animais foram aplicados em plantas de tomate infestadas por *Meloidogyne incognita* para estudar seus efeitos na patogenicidade e na reprodução desse patógeno *in vivo*. Filtrados fúngicos foram obtidos de culturas em meio Czapek. Acetato de etila, hexano, metanol e água foram usados como solventes para obter extratos de tecidos de plantas, dos esterco animais e dos micélios fúngicos. Filtrados de *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium moniliforme* e *Fusarium oxysporum* reduziram a motilidade e eclosão, e aumentaram a mortalidade ($P \leq 0,05$) de J2 de *Meloidogyne incognita* de forma semelhante à observada com Aldicarbe. Alguns filtrados fúngicos reduziram a motilidade, mas não causaram a morte de J2. Já os filtrados de *Aspergillus flavus*, *Cylindrocarpon magnumianum*, *Fusarium solani* e *Mortierella* sp. reduziram apenas a eclosão de J2. Não houve correlação entre a produção de metabólitos tóxicos e a quantidade de micélio fúngico produzido, mas a dose do filtrado obtido de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* e de *Paecilomyces lilacinus*, capaz de imobilizar o J2, foi menor do que aquela que causara morte. No caso específico de *Paecilomyces lilacinus*, observou-se que só após quatro dias de cultivo o filtrado fúngico correspondente apresentava toxidez contra *Meloidogyne incognita*. Com o aumento do número de dias de cultivo foi elevado o efeito do filtrado sobre o nematóide, sendo que apenas após 13 dias a mortalidade de J2 alcançou o índice de 100%. Filtrados de *Fusarium moniliforme* e *Paecilomyces lilacinus*, quando aplicados em plantas de tomate infestadas com *Meloidogyne incognita*, reduziram a produção de ovos por esse nematóide. O peso fresco da parte aérea da plantas de tomate foi reduzido pelas aplicações de filtrados de *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium moniliforme* e

*Comitê Orientador: Vicente Paulo Campos – UFLA (Orientador) e Ludwig Heinrich Pfenning – UFLA.

Sclerotinia sclerotiorum nas maiores dosagens. *In vitro*, extratos de tecidos de *Coffea arabica*, *Carica papaya*, *Leucaena leucocephala*, *Ricinus communis* e *Ruta graveolens*, bem como de esterco de aves e suínos, aumentaram ($P \leq 0,05$) a mortalidade e reduziram ($P \leq 0,05$) a eclosão de J2 quando comparados com água. Maior extração de metabólito tóxico de plantas a J2 foi alcançada na utilização dos solventes metanol e água de forma análoga ao observado para os filtrados fúngicos. As doses de extratos de *Coffea arabica*, *Ricinus communis* e de *Ruta graveolens* capazes de imobilizar J2 foram menores do que aquelas capazes de causar sua morte. Extratos de tecidos de plantas de *Brachiaria decumbens*, *Coffea arabica*, *Leucaena leucocephala* e de esterco de aves, quando aplicados em plantas de tomate infestadas por *Meloidogyne incognita*, reduziram a produção de ovos por esse nematóide e, em altas dosagens, reduziram o peso fresco da parte aérea de tomateiros. Aplicações de extratos de tecidos de *Chenopodium ambrosioides* e de *Ricinus communis* reduziram também o peso fresco da parte aérea e causaram alta toxicidade a plantas em desenvolvimento.

ABSTRACT

FUNGAL CULTURE FILTRATES, AND PLANT AND ANIMAL MANURE EXTRACTS, WITH ANTAGONISTIC ACTIONS AGAINST *Meloidogyne incognita* (KOFOID & WHITE) CHITWOOD

COSTA, Mauro Junior Natalino da. Fungal culture filtrates, and plant and animal manure extracts, with antagonistic actions against *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Lavras: UFLA, 2000. 115p. (Master of Science Dissertation in Phytopathology)*.

Toxic organic molecules affect plant parasitic nematodes in their ontogeny, the process of finding the host or even modifying the plant response to their parasitism, resulting, always, into nematode population reduction. To search for new nematicidal molecules, eighteen fungal species filtrates, seven fungal mycelium extracts, twelve plant species and three animal manures extracts were studied in their inhibition of hatching and mobility and increasing mortality of second stage juveniles (J2) of *Meloidogyne incognita*. Five fungal filtrates, and seven plant organic and animal manure suspensions were applied to *Meloidogyne incognita* infested tomato plants to study their effects on pathogeny and reproduction. Fungal filtrates were obtained from cultures in

* Guidance Committee: Vicente Paulo Campos (Major Professor) and Ludwig Heinrich Pfenning – UFLA.

Czapek medium. Ethyl acetate, hexane, metanol and water were used as solvents to obtain plant or animal manure extracts. *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium oxysporum* filtrates reduced motility and hatching, and increased mortality ($P \leq 0,05$) of J2 of *Meloidogyne incognita* similar to Aldicarb. Some fungal filtrates reduced mobility of J2 without leading to death. *Aspergillus flavus*, *Cylindrocarpon magnusianum*, *Fusarium solani* and *Mortierella* sp. filtrates reduced ($P \leq 0,05$) hatching of J2, only. Toxic metabolite production by fungi was not dependent on the amount of mycelium produced, but *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* and *Paecilomyces lilacinus* filtrate dose able to immobilize the J2 was less than that one to cause death. *Paecilomyces lilacinus* filtrate toxicity to J2 started production four days after culturing and reached 100% mortality thirteen days later. *Paecilomyces lilacinus* and *Fusarium moniliforme* filtrates when applied to infested tomato plants reduced the egg production. Shoot weights were reduced by *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium moniliforme* and *Sclerotinia sclerotiorum* filtrate applications. *Leucaena leucocephala*, *Carica papaya*, *Ricinus communis* and *Ruta graveolens*, chicken and swine manures suspensions increased ($P \leq 0,05$) hatching of J2 compared to water. Greater extraction of plant metabolites toxic to J2 was done by metanol and water similar to that done by fungal filtrates. The organic suspension doses able to immobilize the J2 were always less than those to cause death. *Brachiaria decumbens*, *Coffea arabica*, *Leucaena leucocephala* and chicken manure suspensions when applied to *Meloidogyne incognita* infested tomato plants reduced the egg production and at higher dosages, reduced the tomato shoot dry weights, as well. *Chenopodium ambrosioides* and *Ricinus communis* suspension application reduced tomato shoot dry weights and caused high toxicity to tomato plants development.

1 INTRODUÇÃO

Os nematóides são organismos alongados e afilados nas extremidades e representam um dos grupos de animais mais numerosos da terra. Acredita-se que haja cerca de 500.000 espécies de nematóides ocorrendo em todos os ambientes onde há possibilidade de vida, sendo em maior número nos solos e oceanos. Do ponto de vista ecológico, os nematóides podem ser classificados em três grupos: parasitas de animais, de vida livre tanto em solo como em águas doces e salgadas, e parasitas de plantas, conhecidos como fitonematóides (Tsai et al., 1991). O comprimento desses fitoparasitas varia de 0,5 a 4 mm e, embora haja uma considerável diversidade morfológica dentro do grupo, todos possuem estilete projetável que, na maioria desses organismos, constitui-se de um cilindro redondo e comprido. O estilete exerce a sua função durante a ruptura da parede do ovo na eclosão, na penetração da parede das células vegetais e na alimentação. Os fitonematóides podem ser ectoparasitas migradores, introduzindo nas raízes das plantas apenas o estilete e movimentando-se em filmes de água que circundam as partículas de solo e partes da planta; migradores semi-endoparasitas que introduzem parte de seu corpo nas regiões subterrâneas das plantas; endoparasitas que introduzem totalmente o corpo em folhas, flores, raízes, tubérculos e caules, migrando temporariamente, ou durante toda a sua vida (McDonald, 1979).

Os fitonematóides causam enorme prejuízo à agricultura, reduzindo as colheitas e a qualidade do produto final, além de limitarem o uso do solo e provocarem gastos adicionais com fertilizantes e defensivos agrícolas. São organismos que apresentam difícil controle e fácil disseminação, pois algumas espécies atacam praticamente todas as culturas de importância econômica (Tarjan, 1960; Patel e Desai, 1964; Lordello, 1976; Lambert e Taylor, 1979). As

perdas resultantes do parasitismo dos fitonematóides em 21 culturas de importância econômica mundial foram estimadas em 77 bilhões de dólares anuais, baseadas na produção e nos preços de 1984. Reunindo todas as culturas, os prejuízos excedem 100 bilhões de dólares (Tihohod, 1993).

Os primeiros trabalhos com fitonematóides no Brasil foram realizados com café, no fim do século XIX, na então Província do Rio de Janeiro. Hoje, já há pelo menos 238 espécies relatadas no Brasil (Ionomoto, 1995), sendo algumas largamente distribuídas nas culturas de grande importância econômica como algodão, alho, amendoim, arroz, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, cenoura, feijão, hortaliças, mandioca, milho, soja, trigo etc. (Tenente, Bettiol e Carvalho, 1981). De modo geral, os fitonematóides do gênero *Meloidogyne* são os que causam os maiores prejuízos, o que se deve à capacidade de adaptação de tais fitoparasitas aos diversos agroecossistemas (Zacheo, 1993). *Meloidogyne* possui uma ampla distribuição geográfica, sendo constatado em praticamente todos os países do mundo. Dentre as espécies mais comuns, destacam-se *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* (Taylor e Sasser, 1978).

A erradicação de fitonematóides de uma área é uma tarefa extremamente difícil. O produtor precisa conviver com eles através do manejo da população no solo. Nematicidas podem ser usados, mas são caros e recomendáveis apenas para as culturas altamente rentáveis fazendo-se necessário conhecimento técnico por parte do usuário. Na fauna do solo, o nematicida provoca distúrbios indiscriminados, causando um intenso desequilíbrio biológico além de deixar resíduos tóxicos nos produtos agrícolas (Patel e Desai, 1964; Taylor e Sasser, 1978; Asmus, 1984). Por essas razões, os atuais nematicidas têm o uso restrito em muitos países.

O controle através de resistência genética das plantas é limitado pela escassez de cultivares resistentes na maioria das culturas pois em muitas delas tais cultivares inexistem, ou são de adaptação restrita, impedindo o seu emprego

em larga escala. A ocorrência de infestações por mais de uma espécie de fitonematóide é outro fator limitante. Embora bastante estudado, o controle biológico, em que se utilizam inimigos naturais dos nematóides, como fungos predadores e parasitas, e bactérias do gênero *Pasteuria*, ainda não apresentaram eficiência em aplicações extensivas.

Nos últimos anos, a sociedade tem priorizado aspectos ambientais, direcionando muitas pesquisas para a descoberta de novas substâncias bioativas que possam ser empregadas no manejo integrado de pragas, com menos efeitos negativos ao meio ambiente por serem produtos naturais (Castro, 1989). O conceito de produto natural é estendido a todos os compostos de origem biológica, que podem ser específicos de um único organismo, ou comum a um grupo deles. A utilização destes produtos pelo ser humano já era comum na Idade Média e ocorre até os dias atuais, com direcionamento para diferentes fins (Mann, 1987).

As plantas, os fungos e as bactérias constituem a principal fonte de produtos naturais, com enorme diversidade de espécies (Hawksworth, 1991; Groombridge, 1992). Em 1991 havia aproximadamente 70.000 espécies conhecidas de fungos, sendo que cerca de 5.000 delas já tinham sido registradas como produtoras de metabólitos secundários (Hawksworth, 1991). Em plantas, muitas das atividades desses metabólitos têm um papel ecológico freqüentemente associado com a sobrevivência e a competição entre organismos (Harbourne, 1988). Entre os microrganismos, particularmente os fungos, que possuem ciclos de vida complexos e interagem intimamente com outros organismos, também é possível identificar os metabólitos secundários, que são parte de suas estratégias para a sobrevivência (Porter e Fox, 1993).

Embora ocorra no Brasil enorme diversidade de espécies de plantas e de microrganismos, componentes da microbiota do solo, ainda são escassos os estudos sobre a interação entre eles e sobre o efeito de suas substâncias

produzidas. Desta forma, objetivou-se: 1) estudar *in vitro* o efeito de filtrados de culturas fúngicas e de extratos obtidos de resíduos animais e vegetais, na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis pré-parasitas do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*; 2) estudar o efeito, em casa-de-vegetação, desses filtrados fúngicos e extratos, na patogenicidade e na população de *Meloidogyne incognita*, em tomateiros.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

No solo, os fungos antagonistas são os principais inimigos naturais dos nematóides e, portanto, têm recebido muita atenção dos pesquisadores. Várias destas espécies foram intensivamente estudadas (Duddington, 1960; Barron, 1977; Dowe, 1987; Naves e Campos, 1991), destacando-se os endoparasitas, que penetram no corpo do nematóide através de aberturas naturais ou mesmo pela cutícula, desenvolvem-se e consomem todo o seu corpo (Aschner e Kohn, 1958; Campos, 1992). Os parasitas de ovos e de cistos penetram no ovo e infestam o embrião (Mankau, 1979), destacando-se nesse grupo, os fungos *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*, que causam a supressão dos nematóides das galhas (*Meloidogyne* spp.) e do cisto (*Heterodera glycyne*) (Jatala, Kaeltenbach e Bocangel, 1980). Os predadores desenvolveram um mecanismo de formação de armadilha, através da qual a hifa adere ao nematóide para penetrar no seu corpo logo em seguida (Dackman e Nordbring-Hertz, 1992; Dijksterhuis, 1993). Entre os principais gêneros de fungos predadores, se encontram *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactylella* e *Monacrosporium*, que contêm mais de 100 espécies (Duddington, 1960).

Apesar dos vários fungos antagonísticos a fitonematóides, a utilização direta desses microorganismos para o controle de tais fitoparasitas ainda não encontrou amplo emprego na agricultura. Na França, por exemplo, uma linhagem de *Arthrobotrys irregularis*, produzida comercialmente em grãos de centeio, controlou juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* spp. em solos cultivados com plantas olerícolas (Cayrol e Frankowski, 1979). Essa linhagem, comercializada com o nome Royal, teve sua utilização dificultada devido ao tipo de formulação empregada, isto é, suporte nutritivo à base de cereal cozido, o que exige armazenamento e transporte do produto em condições refrigeradas, além

do emprego de altas dosagens. São necessários cerca de 1.400 kg/ha do produto (algo em torno de 14×10^7 propágulos/m²), tornando prático o seu uso apenas em pequenas áreas. O produto deve ser espalhado a lanço e incorporado na superfície do solo, um mês antes do plantio da cultura (B'chir, Horrique e Verlodt, 1982).

Freire e Bridge (1985) comprovaram a patogenicidade de isolados de *Paecilomyces lilacinus* e de *Verticillium chlamydosporium* a ovos de *Meloidogyne incognita*. No entanto, esse potencial em agar-água não representa as condições encontradas nos solos com seus complexos habitats. A ausência de um competidor e a falta de uma alternativa fonte de alimento no ágar-água pode ter forçado *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* a se utilizarem das massas de ovos como fonte única de alimento disponível.

Em decorrência das dificuldades para o emprego de fungos no controle de fitonematóides tem surgido como alternativa a utilização de metabólitos fúngicos com propriedades tóxicas a tais fitoparasitas.

2.1 Produção de metabólitos secundários e utilização pelo homem

Nos organismos vivos, compostos químicos são sintetizados e degradados por meio de uma série de reações químicas, cada uma mediada por uma enzima, na maioria dos casos. Esses processos são conhecidos como metabolismo, compreendendo o catabolismo ou degradação, e anabolismo ou síntese. Todos os organismos possuem vias pelas quais são sintetizados compostos químicos essenciais, tais como: açúcares, aminoácidos, ácidos graxos comuns, nucleotídeos e os polímeros derivados deles (polissacarídeos, proteínas, lipídios, RNA e DNA etc.). Tais vias constituem o metabolismo primário. Organismos podem também utilizar vias metabólicas alternativas, produzindo

compostos que não têm aparente utilidade, os quais são conhecidos como metabólitos secundários. Portanto, os metabólitos secundários não fazem parte das rotas metabólicas essenciais ao desenvolvimento dos organismos. Aparentemente, a constituição genética do organismo só permite a ativação das vias secundárias, durante estágios particulares de crescimento e desenvolvimento, ou durante períodos de estresse causados por limitação nutricional. Conseqüentemente, metabólitos secundários foram definidos como moléculas sintetizadas mas não requeridas para o crescimento dos seres vivos. Eles pertencem a um vasto grupo de produtos naturais de baixo peso molecular que não podem ser facilmente definidos, mas são produzidos largamente por seres como bactérias, fungos e plantas (Mann, 1987).

A produção e a diversidade dos metabólitos são função do potencial biosintético do organismo e das condições para a sua expressão, sendo que alguns parâmetros podem ser manipulados para ajudar a produção de diversos metabólitos secundários. Pode-se, por exemplo, variar as fontes de carbono e de nitrogênio, ou de outros componentes, de acordo com os produtos desejados (Yarborough et al., 1993). No caso específico de fungos, usualmente as vias biosintéticas para a produção dessas moléculas são ativadas no último estágio do desenvolvimento da cultura, após a divisão celular e ou consumação do acúmulo de biomassa.

Os metabólitos secundários foram primeiramente utilizados pelo homem como: a) aromáticos obtidos das pimentas, b) componentes medicinais obtidos de ervas, c) pigmentos para pinturas, d) alucinógenos obtidos dos fungos *Amanita* e *Psilocybe* e venenos mortais originários de alguns cogumelos (Yarborough et al., 1993). Com a descoberta e o desenvolvimento da penicilina, teve início uma nova era na pesquisa de produtos naturais, congregando cientistas com diferentes formações, interessados na obtenção de novos produtos. Com isso, antibióticos foram produzidos a partir de culturas de fungos

e bactérias de forma barata, com melhor qualidade e rapidez no processo industrial. Nos anos entre 1945 e 1965 grandes avanços foram conquistados por grandes companhias nas áreas de tecnologia farmacêutica de incubação de microrganismos e de seleção de isolados mais eficazes, gerando novas e poderosas drogas para o combate a diversas infecções. Muitos desses novos compostos descobertos não tiveram utilidade, pois não possuíam propriedades biológicas úteis, mas a lista de produtos naturais conhecida cresceu exponencialmente (Yarborough et al., 1993). Desde então, a síntese e o acúmulo de metabólitos secundários por fungos tem sido realizada em processos industrializados. Isolados mais produtivos são selecionados e as condições ótimas para a máxima produtividade dos metabólitos são definidas. Alguns exemplos de metabólitos fúngicos produzidos industrialmente são: penicilinas, produzidas por *Penicillium chrysogenum*; ácido cítrico, produzido por *Aspergillus niger*; ácido fumárico produzido por *Rhizopus* spp. e ácido málico, produzido pelo *Penicillium brevicompactum*. Além disso, os fungos são utilizados pelas indústrias para produção de várias enzimas, aminoácidos, pigmentos, vitaminas e substâncias flavorizantes. Como exemplos de enzimas de importância industrial produzidas por fungos pode-se citar a alfa-amilase, produzida por *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae*; glucoamilase produzida por *Rhizopus*; enzimas para desdobramento de pectina produzidas por *Aspergillus niger*; glucose oxidase produzida pelo *Aspergillus niger* e protease produzida por *Rhizomucor* (Samson et al., 1985).

2.2 Metabólitos fúngicos tóxicos a fitonematóides

Ao serem capturados em armadilhas de fungos predadores, os nematóides pouco se debatem e têm sua movimentação reduzida rapidamente até

a paralisia total. Acredita-se que isso se deva a toxinas fúngicas, que além de imobilizarem, também podem matar os nematóides. Em acordo com essa possibilidade, estão os vários trabalhos que registraram a produção de toxinas por fungos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Monacrosporium* e *Nematoctonus* (Olthof e Estey, 1963; Giurma e Cooke, 1971; Balan e Gerber, 1972; Krizkova, Balan e Nemeč, 1976; Kennedy e Tampion, 1978).

Ao contrário dos fungos que produzem estruturas para captura de nematóides, *Pleurotus ostreatus* não gera armadilhas ou células adesivas, mas sim minúsculas gotas de toxinas em células especializadas. O nematóide que toca tais gotículas é imobilizado em menos de 30 segundos (Barron e Thorn, 1987).

2.2.1 Procedimento para obtenção de filtrados fúngicos e testes *in vitro* e *in vivo*

Filtrados de culturas de fungos podem ser obtidos através do cultivo de fungos em frascos contendo meios líquidos (Tabela 1).

TABELA 1 – Meios líquidos utilizados no cultivo de fungos para produção de filtrados.

Meio de cultura	Referência
Czapek	Dahya e Singh, 1985; Zaki, 1994; Arya, Saxena e Arya, 1993; Jackson et al., 1997.
Czapek Dox	Zaki, 1994.
Richard Solution	Siddiqui e Mahmood, 1993.

O tempo de cultivo tem sido variado. Vadhera, Shukla e Bhatt (1995); cultivaram os fungos por 7 dias. Já Hallman e Sikora (1996), cultivaram-nos por 15 dias. Saifullah (1996) cultivou os fungos por 16 dias, enquanto Arya, Saxena e Arya (1993) o fizeram por 20 dias. Durante o crescimento fúngico, tem sido utilizada incubadora rotatória (shaker) a 240 rpm, à temperatura de 25 °C (Siddiqui e Mahmood, 1993; Zaki, 1994; Hallman e Sikora, 1996). Tem-se utilizado como inóculo fúngico inicial discos de 0,5 cm de diâmetro, retirados de placas com cultura de 7 dias de idade. Após o tempo de crescimento, o micélio fúngico pode ser separado do meio através de filtração em papel Whatman nº 1, seguida de centrifugação (Siddiqui e Mahmood, 1993; Zaki, 1994). Esta tem como objetivo remover as hifas e os esporos fúngicos não retidos pelo papel. Para confirmar que não há esporos ou hifas restantes, os filtrados são observados sob microscópio. Uma alternativa à filtração em papel e centrifugação consiste na filtração com membranas de 0,2 µm e 8 µm. A seguir, realizam-se imediatamente testes *in vitro* ou de patogenicidade de nematóides *in vivo*, empregando-se esse filtrado (Hallman e Sikora, 1996).

Para testes de patogenicidade, o filtrado fúngico tem sido diluído com água destilada esterilizada. Por exemplo, Siddiqui e Mahmood (1993) utilizaram diluições de 100 vezes, enquanto Arya, Saxena e Arya (1993) diluíram o filtrado em 100 e 1.000 vezes.

Alternativamente, Hallman e Sikora (1996) tomaram 100 mL de filtrado fúngico, concentraram-no por evaporação rotatória em banho-maria a 50 °C e, em seguida, dissolveram o resíduo obtido em 15 mL de água destilada. Em seguida, os filtrados fúngicos foram testados em juvenis do segundo estágio (J2) ou em massas de ovos de nematóides. Os juvenis contidos em 1 mL de água destilada esterilizada foram colocados em 1 mL de solução antibiótica (150 ppm de penicilina e 150 ppm de estreptomicina), para prevenir crescimento microbiano. Testes prévios demonstraram que a mistura antibiótica usada

permitiu o controle do crescimento bacteriano, sem afetar a atividade do nematóide. Os nematóides foram então colocados em placas de Petri esterilizadas, juntamente com 10 mL do filtrado e mantidos entre 25 e 30 °C. A cada 12, 24 ou 48 horas de exposição ao filtrado, os nematóides foram analisados quanto à motilidade (Alam, Khan e Saxena, 1973; Dahya e Singh, 1985; Arya, Saxena e Arya, 1993; Zaki, 1994; Galper et al., 1991; Hallman e Sikora, 1996). Hallman e Sikora (1996) também testaram o tempo de exposição, a inativação e a mortalidade dos nematóides em períodos como 10, 30 e 60 minutos ou 2, 5, 9, 24 e 48 horas, após o estabelecimento do ensaio. Nematóides aparentemente inativos, isto é, rígidos, foram transferidos para peneira de 20 µm de abertura e lavados em água de torneira, até a remoção de todo o filtrado. A seguir, foram incubados em incubadora rotatória, durante 24 horas, e classificados como mortos ou não. Também os ovos têm sido submetidos a procedimento análogo, avaliando-se a eclosão de J2 em diversos períodos de tempo. Hallman e Sikora (1996) os avaliaram em 48 h; Rekha, Saxena e Arya (1993) e Zaki (1994) em 48, 72 e 96 h; Dahya e Singh (1985) em 1, 2, 4 e 6 dias; e Alam, Khan e Saxena (1973) em 5 dias. Como testemunhas têm sido empregadas placas contendo apenas água, ou o meio de cultura líquido, sem inóculo de fungos.

O tempo de ação dos metabólitos tóxicos de *Fusarium oxysporum* no nematóide *Meloidogyne incognita* foi investigado por Hallman e Sikora (1996). Eles reduziram a motilidade em apenas 10 minutos de exposição sendo que após 60 minutos, 98% dos juvenis foram inativados. Com exposição de 5 horas, 50% dos juvenis foram mortos e, em 24 horas, ocorreu 100% de mortalidade.

Os efeitos de filtrados de *Paecilomyces lilacinus* na embriogênese de ovos de *Meloidogyne hapla* foram estudados por Fitters, Belder e Belder (1993). Ovos axenizados desse nematóide foram colocados em solução de agarose estéril com ou sem filtrados, numa placa de microtitulação. A seguir, a agarose

se solidificou fixando os ovos individualmente. Desta forma, pôde-se observar durante 3 semanas, o desenvolvimento embrionário em condições estéreis. Naqueles ovos tratados com os filtrados, o desenvolvimento do embrião parou após 2–4 dias, e ocorreu a morte em 88% dos embriões. No entanto, nos ovos que já continham o juvenil desenvolvido no momento do estabelecimento do ensaio, os filtrados não afetaram a eclosão. Na testemunha (sem filtrado), 80% dos ovos, quando no estágio de gástrula, desenvolveram-se até a eclosão de J2.

Cayrol, Dijan e Pijarowski (1989), trabalhando com filtrado não diluído de *Paecilomyces lilacinus*, obtiveram 100% de inativação de juvenis de *Meloidogyne arenaria*. Para Khan e Khan (1992), os efeitos de filtrados de *Paecilomyces lilacinus* na mortalidade de *Meloidogyne incognita*, indicam a ocorrência de substâncias nematocidas. Molina e Davide (1992) obtiveram alguma atividade nematocida de filtrados de *Paecilomyces lilacinus*, com 26,4% de mortalidade em *Meloidogyne incognita* e 12,4% em *Radopholus similis*. Maior mortalidade e inibição da eclosão foi obtida quando se aumentou a concentração dos filtrados e o período de exposição em 24, 48 e 72 horas (Lanjewar e Shukla, 1986; Korayem, Hasabo e Ameen, 1993; Vadhera, Shukla e Bhatt, 1995).

Filtrados de *Paecilomyces lilacinus* inibiram a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica* quando expostos por 72 horas. Inibição irreversível da motilidade ocorreu em 47 a 62% dos espécimens submetidos a esse filtrado. Porém, o filtrado em alta concentração imobilizou todos os J2 (Zaki, 1994).

Efeitos nematostáticos e nematocidas de filtrado de *Verticillium chlamydosporium* cultivado em meio líquido ocorreram em *Globodera pallida* e *Panagrellus redivivus*. Após diluição com igual volume de água, o filtrado causou 100% de mortalidade em machos além de forte contração muscular, como retração dos espículos. À diluição de 1:10 (filtrado:H₂O) os nematóides

ficaram paralizados, mas recuperaram a motilidade quando colocados em água. Diluições maiores não tiveram nenhum efeito (Saifullah, 1996).

Filtrados de culturas de fungos não antagonistas de nematóides também podem afetar a eclosão, motilidade e mortalidade de J2 de fitonematóides. Vários fungos têm sido testados para seleção de filtrados mais promissores no controle de fitonematóides. Segundo Khan e Khan (1992), ficou evidente que filtrados de 15 fungos apresentavam substâncias nematicidas contra *Meloidogyne incognita*, sendo que *Nigrospora* spp. e *Nigrospora sphaerica* continham essas substâncias em maior quantidade e *Thielavia terricola*, em menor quantidade. Filtrados obtidos de culturas de *Fusarium* têm demonstrado toxidez a fitonematóides. A exposição de nematóides a filtrados de cultura de *Fusarium oxysporum*, por mais de 48 horas, causou desintegração dos tecidos do corpo dos juvenis, levando-os a flutuarem na superfície da solução testada. Também se observou efeitos sobre *Meloidogyne arenaria* pelo filtrado de *Fusarium roseum* var. *arthrosporoides*, sendo que a percentagem de inibição da eclosão e de mortalidade de J2 foi diretamente proporcional à concentração dos filtrados (Cayrol, Djan e Pijarowski, 1989; Arya, Saxena e Arya, 1993; Hallman e Sikora, 1996). Filtrados de cultura de *Fusarium solani*, apresentaram efeitos deletérios sobre *Meloidogyne incognita*. Cerca de 100% dos juvenis foram inativados após 48 horas de exposição, recuperando a motilidade ao serem colocados em água. Apenas com tempo de exposição superior a 72 horas, foi obtida mortalidade de 100%. Esses metabólitos fúngicos afetam o sistema nervoso do nematóide, causando sua rápida inativação (Mani e Sethi, 1984). Filtrados de cultura de *Fusarium solani* também tiveram efeitos nematicidas em fêmeas de *Rotylenchulus reniformis*, sendo que a percentagem de mortalidade aumentou com a concentração do filtrado fúngico e o período no qual permaneceram expostas. A taxa de mortalidade foi mais baixa após 24 horas e máxima após 96 horas de exposição. Quando concentrado, a mortalidade foi de

28% após 24 horas, chegando ao máximo de 52,4% após 96 horas de exposição (Vadhera, Shukla e Bhatt, 1995).

Fungos associados à raízes, como os endofíticos, também têm sido estudados. Segundo Hallman e Sikora (1996), *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora cactorum*, *Pythium ultimum* e *Rhizoctonia solani*, isolados de tecido cortical da superfície esterilizada de raízes de tomate coletadas em campos de produção, produziram metabólitos secundários que foram muito tóxicos a *Meloidogyne incognita*. Alan, Khan e Saxena (1973) estudaram o efeito de filtrados de *Helminthosporium nodulosum*, *Trichoderma lignorum*, *Curvularia tuberculata*, *Penicillium coryophilum* e de *Aspergillus niger* obtidos da rizosfera de tomate, na mortalidade de *Haplolaimus indicus*, *Tylenchorynchus brassicae* e na eclosão e mortalidade de juvenis de *Meloidogyne incognita*. Os filtrados desses fungos testados tiveram efeitos tóxicos sobre os nematóides e inibiram a eclosão de juvenis. Maior efeito foi obtido aumentando-se o tempo de exposição e a concentração.

Filtrados de 17 espécies fúngicas foram avaliados quanto a atividade nematicida contra nematóides *Meloidogyne incognita* e *Radopholus similis*. Para tanto, foram feitos testes de mortalidade de J2 e de inibição da infectividade de J2 em plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) e de banana (*Musa* sp.) (Siddiqui e Mahmood, 1995). Os melhores resultados foram obtidos com: *Penicillium oxalicum*, *Penicillium anaticum*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. Filtrados de *Aspergillus niger*, *Curvularia tuberculata* e *Penicillium coryophilum*, isoladamente ou em combinações, foram empregados no tratamento de sementes, para o manejo do complexo da podridão-de-raiz de ervilha causado por *Meloidogyne incognita* raça 3 e *Macrophomina phaseolina*. Plantas que receberam filtrados de todos os quatro fungos sozinhos ou em misturas, tiveram maior peso seco e redução da população de *Meloidogyne*

incognita, de galhas e do índice de podridão de raízes (Siddiqui e Mahmood, 1995).

Podem-se citar outras culturas fúngicas cujos filtrados têm demonstrado efeitos antagônicos a nematóides (Tabela 2).

TABELA 2 – Alguns fungos que produzem filtrados com efeito antagônico a nematóides.

Fungo	Nematóide	Referência
<i>Alternaria brassicola</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Siddiqui e Hussein, 1992.
<i>Apergillus flavus</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Siddiqui e Hussein, 1992.
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Alam, Khan e Saxena, 1973; Molina e Davide, 1992; Zuckerman, Matheny e Acosta, 1994.
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Meloidogyne</i> sps.	Dahya e Singh, 1985
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Anwar e Saxena, 1993.
<i>Cephalophora irregularis</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Meshram e Goswami, 1992.
<i>Cunninghamella elegans</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Galper et al., 1991.
<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Nitao, Meyer e Chitwood, 1999.
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Arya, Saxena e Arya, 1993.
<i>Nigrospora sphaerica</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Khan e Khan, 1992.
<i>Penicillium anaticum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Molina e Davide, 1992.
<i>Penicillium coryophilum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Alam, Khan e Saxena, 1973.
<i>Penicillium oxalicum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Molina e Davide, 1992.

...continua...

TABELA 2, Cont.

<i>Penicillium oxalicum</i>	<i>Radopholus similis</i>	Molina e Davide, 1992.
<i>Pythium myriotylium</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Lanjewar e Shukla, 1986.
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Meloidogyne graminicola</i>	Sharma e Saxena, 1992.
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sharma e Saxena, 1992.
<i>Sepedonicum</i> sp.	<i>Meloidogyne incognita</i>	Meshram e Goswami, 1992.
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Meloidogyne graminicola</i>	Pathak e Kumar, 1998.
<i>Trichoderma lignorum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Alam, Khan e Saxena, 1973.
<i>Trichoderma viride</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sharma e Saxena, 1992.

2.2.2 Moléculas caracterizadas

Djan et al. (1991) observaram atividades tóxicas a *Meloidogyne* spp., a partir de uma substância isolada de filtrados de *Paecilomyces lilacinus* e de *Trichoderma longibrachiatum*. Tal substância, identificada como ácido acético, era produzida abundantemente durante o crescimento do fungo (0,044 mol de CH₃COOH, por litro de filtrado de cultura). Em testes realizados *in vitro* a substância diminuiu a motilidade de J2, enquanto nos testes *in vivo* reduziu a patogenicidade do nematóide.

Kawazu et al. (1993) identificaram e caracterizaram as substâncias bursaphelocida A e B, tóxicas a *Bursaphelenchus xylophilus*.

2.3 Metabólitos vegetais tóxicos a fitonematóides

Métodos culturais como a rotação de culturas e o emprego de plantas antagonicas, têm merecido destaque dentre as alternativas para o controle de fitonematóides. Quando empregadas na forma de adubação verde, essas plantas melhoram as condições fisico-químicas do solo. A decomposição da matéria orgânica incorporada favorece a proliferação de inimigos naturais, além de liberarem substâncias com efeito nematicida (Badra, Saleh e Oteifa, 1979).

Algumas plantas contêm, na parte aérea, compostos nematicidas pré-formados, que podem contribuir para o controle de nematóides após a incorporação no solo (Nogueira, Oliveira e Ferraz, 1994), além de poderem atuar contra patógenos do solo (Rodríguez-Kábana et al., 1994). Sing e Sitaramaiah (1967) constataram efeito adverso na reprodução de *Meloidogyne javanica* em tomateiro e quiabeiro, ao incorporarem ao solo folhas de diversas plantas. De forma análoga, outros trabalhos também demonstraram que a incorporação ao solo de folhas de abacaxi picadas (Linford, Yap e Oliveira, 1938), trevo-doce e sorgo como adubos verdes (Patel e Desai, 1964) ou de folhas de *Cassia occidentalis* (Sing e Sitaramayah, 1967), reduziram a população de espécies de *Meloidogyne*.

A utilização de mucuna preta (*Stizolobium aterrimum*) em rotação de cultura, é prática adotada por muitos agricultores, principalmente pelo efeito como adubo verde, em razão da grande quantidade de massa produzida, como também, na redução de populações de fitonematóides (Tenente, 1980; Miyasaka, Camargo e Cavaleri, 1983).

Sete espécies de plantas foram testadas contra *Meloidogyne javanica*, em condições de campo, por Asmus (1984). Após 90 dias de plantio no campo, a parte aérea foi incorporada ao solo e, passados mais 10 dias, observou-se considerável redução populacional de *Meloidogyne incognita*.

Decker, citado por Orlando (1957), recomendou o uso do extrato da erva-de-Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*) para o controle dos vermes de raízes. Baseado nessa informação e em outras que tratam do valor do óleo de quenopódio como vermicida humano, Orlando (1957) testou em campo naturalmente infestado por *Meloidogyne javanica* a erva-de-Santa Maria de diferentes formas: como cultura intercalar, adubo verde, extrato aquoso e óleo. Obteve-se alta redução de *Meloidogyne javanica* no solo em todos os tratamentos. O mecanismo envolvido pode estar relacionado com sua composição química que, entre outras substâncias, contém o ácido butírico, de comprovada eficiência nematicida contra *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus penetrans* (Sayre e Patrick, 1965).

O nim (*Azadirachta indica*), uma Meliaceae de origem asiática, contém em seus tecidos diversos compostos com propriedades inseticidas e nematicidas, o que a torna uma das plantas mais promissoras como produtora de defensivos agrícolas naturais (Ferraz e Valle, 1997).

Segundo Giesbrecht (1980), a produção de substâncias bioativas por plantas é realizada através de diversas vias metabólicas secundárias, que levam à formação de compostos cuja distribuição pode ser restrita a algumas famílias, gêneros ou até mesmo espécies. Muitos são produzidos e armazenados em tecidos jovens, particularmente folhas, ou então, em tecidos reprodutivos como flores e sementes. A natureza desses compostos varia de espécie para espécie, sendo geralmente constante dentro da mesma espécie vegetal, o que pode torná-los de importância taxonômica (Bennett e Wallsgrave, 1994).

A produção e o acúmulo de compostos secundários pelas plantas são metabolicamente dispendiosos, sendo por isso encontrados em quantidades mínimas, quando comparados com os compostos primários. Ademais, a distribuição dessas substâncias nos tecidos vegetais pode ser totalmente desuniforme (Balandrin e Klocke, 1988). No entanto, esses metabólitos podem

ser de grande importância, já que podem apresentar alta atividade biológica mesmo em concentrações mínimas.

Com a interação das ciências Ecologia e Bioquímica, pôde-se constatar que muitos desses compostos possuem importantes funções nos vegetais, já que podem agir na preservação da integridade das plantas, contra ataques de inimigos, como bactérias, fungos, insetos ou herbívoros, ou na atração de polinizadores e dispersores de sementes. Além disso, esses compostos secundários podem estar envolvidos e/ou exibir funções de reserva, proteção contra radiação ultravioleta, proteção contra estresse osmótico e nutricional e processos alelopáticos (Bennett e Wallsgrove, 1994). Esses compostos, quando ingeridos por um animal, por exemplo, produzem variados efeitos, dos quais origina a classificação das plantas em medicinais, quando esse efeito é benéfico, ou tóxicas, quando esse efeito é tóxico ou deletério às funções orgânicas animal. Como efeitos benéficos desses compostos no homem podem-se listar: analgésico, hipotensor, diurético, antiséptico, descongestionante, cicatrizante etc. (Santos, 1996). Esses efeitos decorrem principalmente de dois grupos de fatores: genéticos (hereditários) e portanto fixos, e ambientais como luz, temperatura, solo, água etc. (Correa Jr., Ming e Scheffer, 1994). As plantas produzem compostos secundários, com diferentes estruturas químicas como : alcalóides, óleos essenciais (terpenóides), taninos, glicídeos, ácidos orgânicos e ácidos urônicos (Correa Junior, Ming e Scheffer, 1994). Uma enorme variedade de compostos deriva do ácido shiquímico ou de aminoácidos aromáticos (Bennett e Wallsgrove, 1994). Conhecem-se compostos como glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, aminoácidos não protéicos, alcalóides, fenóis (fenilpropanóides, ácido cinâmico, precursores de lignina, ácidos hidroxibenzóicos, taninos, isoflavonóides, etc.), ácido salicílico e metil jasmonato, que são relacionados aos mecanismos de defesa das plantas. Parece claro que alguns sistemas de produção de compostos secundários nas plantas são dinâmicos, respondendo a ataques,

infecções e estresse, sendo que o aumento da síntese ou acúmulo de tais compostos parte de um mecanismo de defesa integrado (Bennett e Wallsgrove, 1994; Pascholati e Leite, 1994; Pascholati e Leite, 1995).

2.3.1 Procedimentos para obtenção de extratos vegetais

De um modo geral, o método de extração a ser utilizado depende muito do material vegetal e das características físico-químicas das substâncias ativas. Quando não existe um padrão para nenhum desses aspectos busca-se, geralmente, a adoção de procedimentos mais abrangentes. Para tanto, uma possibilidade consiste na extração a quente, com solventes de diferentes polaridades, como hexano, acetato de etila, clorofórmio, diclorometano, metanol, água etc.

2.3.2 Efeito tóxico de extratos vegetais em fitonematóides

Extratos vegetais podem afetar a eclosão, motilidade e a mortalidade de fitonematóides. Nandal e Bathi (1983) realizaram seleção *in vitro* de extratos foliares de 30 espécies de plantas, de várias famílias, em diferentes diluições, e determinaram a percentagem de mortalidade de J2 de *Meloidogyne javanica*, após 48 horas. Diluições até 1:20 (extrato:H₂O) de extratos de *Tagetes patula*, *Vernonia cineraria* e *Xanthium strumarium*, causaram taxa de mortalidade muito baixa, enquanto extratos de *Tagetes erecta*, à diluição 1:10 (extrato:H₂O), exibiram taxas bem maiores.

Testes com algumas plantas de outras famílias apresentaram resultados similares. Kawazu et al. (1980), avaliando o efeito de extratos de 61 espécies de

plantas em 31 famílias, verificaram que 11 delas, em quatro famílias, apresentaram atividade nematicida *in vitro* em relação a *Bursaphelenchus lignocolus*. Na família Compositae, *Cirsium japonicum*, *Coreopsis lanceolata* e *Erigeron arinus* apresentaram atividade nematicida, enquanto *Chrysanthemum decaisneanum* não apresentou atividade.

Bano, Anver e Tiyagi (1986) testaram extratos de *Cosmos bipinnatus*, *Eclipta alba*, *Sonchos oleraceus* e *Zinnia elegans* contra *Meloidogyne incognita*. Verificaram que todos os extratos obtidos de flores, caules e raízes das plantas estudadas causaram mortalidade dos J2, na seguinte ordem decrescente de eficiência para as espécies: *Sonchos oleraceus*, *Eclipta alba*, *Zinnia elegans* e *Cosmos bipinnatus*. Também observaram que a eclosão de juvenis era significativamente reduzida na presença de extratos dessas plantas.

Sharma (1996) obteve total imobilização de J2 de *Meloidogyne incognita* em 1 hora, com extratos de *Urtica dioica*, *Ricinus communis*, *Datura stramonium* e *Lantana camara*.

Scramin, Silva e Fernandes (1987) fizeram uma avaliação *in vitro* do efeito nematicida ou nematostático de extratos de 14 espécies vegetais sobre J2 de *Meloidogyne incognita* raça 1. Como testemunha, utilizaram o nematicida Carbofuran. Foram testados três tipos de extratos para cada planta: hexânico, etanólico e clorofórmico. Diferentes partes da planta e diferentes solventes extratores tiveram efeitos diversos na atividade nematicida em juvenis. Os extratos hexânicos de caule de *Vernonia polyanthes* apresentaram atividade comparável ao do Carbofuran, ao passo que o extrato clorofórmico não apresentou atividade significativa.

Testes com extratos hexânicos e clorofórmicos de partes aéreas de *Mucuna aterrima*, realizados por Nogueira et al. (1994), apresentaram uma pequena redução no número de juvenis de *Meloidogyne incognita* eclodidos. No entanto, em extratos com etanol/água (4:1 v/v) e acetato de etila/água (4:1 v/v),

a redução do número de juvenis vivos de *Meloidogyne incognita* foi significativa. Juvenis apresentaram movimentos reduzidos ou foram paralizados. Resultados similares foram obtidos com extratos otidos de raízes. Em extratos de clorofórmio e de acetato de etila/acetona não ocorreu eclosão de juvenis. Em extrato de etanol/água a eclosão de juvenis permaneceu baixa, porém com redução dos seus movimentos.

Podem-se citar muitas plantas que têm apresentado efeitos antagônicos a nematóides (Tabela 3).

TABELA 3 – Plantas que produzem extratos com efeito antagônico a nematóides.

Planta	Nematóide	Referência
<i>Aegle marmelos</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Gupta e Sharma, 1993; Awad et al., 1997.
<i>Allium cepa</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Gupta e Sharma, 1993; Awad et al., 1997.
<i>Allium sativum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Gupta, Sharma e Gupta, 1995.
	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Anacardium occidentale</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Onifade e Fawole, 1996.
<i>Arthemisia abssinthum</i>	<i>Helicotylenchus dihystra</i>	Korayem, Hasabo e Ameen, 1993.
<i>Ascophyllum nodosum</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Wu et al., 1997.
<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Meloidogyne hapla</i>	Takasugi et al., 1975.
	<i>Paratrichodorus minor</i>	Rohde e Jenkins, 1958.
	<i>Pratylenchus curvitatatis</i>	Takasugi et al., 1975.

...continua...

TABELA 3, Cont.

	<i>Pratylenchus penetrans</i>	Takasugi et al., 1975.
<i>Azadirachta indica</i>	<i>Ditylenchus miceliophagus</i>	Ganai, Kaul e Chabra, 1992.
	<i>Meloidogyne arenaria</i>	Rossner e Zebitz, 1986.
	<i>Meloidogyne incognita</i>	Mojunder e Mishra, 1992.
	<i>Pratylenchus loosi</i>	Gnanapragasam et al., 1993.
	<i>Pratylenchus penetrans</i>	Rossner e Zebitz, 1986.
	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	El Nagar et al., 1994.
<i>Bougainvillea spectabilis</i>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Awan et al., 1992.
	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sankaranayanam e Sundarabadu, 1996.
<i>Brassica nigra</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Caesalpinia crista</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Calendula officinalis</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sharma e Trivedi, 1991.
<i>Calotropis gigantea</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Prasad, Singh e Singh, 1995.
	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Siddiqui e Alam, 1988.
<i>Calotropis procera</i>	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Siddiqui e Alam, 1988.
	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Awan et al., 1992.
<i>Cannabis sativa</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sharma, 1996.
<i>Capsicum annum</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.

...continua...

TABELA 3, Cont.

<i>Carica papaya</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Hoplolaimus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Meloidogyne incognita</i>	Parada e Guzman, 1997.
<i>Carthamus tinctorius</i>	<i>Aphelenchoides besseyi</i>	Kogiso, Wada e Munakada, 1976.
<i>Catharanthus rosea</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Nogueira et al., 1994.
<i>Chrysanthemum indicum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sharma e Trivedi, 1991.
	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Cineraria maritima</i>	<i>Meloidogyne arenaria</i>	Sassaneli e D'Addabbo, 1993.
	<i>Meloidogyne hapla</i>	Sassaneli e D'Addabbo, 1993.
	<i>Meloidogyne javanica</i>	Sassaneli e D'Addabbo, 1993.
<i>Clerodendron enemi</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Crotalaria juncea</i>	<i>Radopholus similis</i>	Jasy e Koshy, 1992.
<i>Crotalaria spectabilis</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Fassuolitis e Skucas, 1969.
<i>Cymbopogon flexuosus</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Tiyagi, Siddiqui e Alam, 1986.
	<i>Hoplolaimus indicus</i>	Tiyagi, Siddiqui e Alam, 1986.
	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Tiyagi, Ahmada e Alam, 1990.
	<i>Tylenchorhynchus brassicae</i>	Tiyagi, Siddiqui e Alam, 1986.

...continua...

TABELA 3, Cont.

<i>Cymbopogon</i> spp.	<i>Heterodera avenae</i>	Gokte, Maeshwari e Mathur, 1991.
	<i>Heterodera zaeae</i>	Gokte, Maeshwari e Mathur, 1991.
<i>Cynodon dactylon</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Parada e Guzman, 1997.
<i>Datura metel</i>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Awan et al., 1992.
<i>Datura stramonium</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sharma, 1996.
<i>Derris</i> sp.	<i>Xiphinema diversicaudatum</i>	Birch, Robertson e Fellows, 1993.
<i>Digitaria decumbens</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Haroon e Smart Junior, 1983.
<i>Eclipta alba</i>	<i>Tylenchorhynchus brassicae</i>	Wani e Ansari, 1993.
<i>Euphorbia pillulifera</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Hussaini, Rao e Pundue, 1996.
<i>Ficus carica</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Hoplolaimus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
<i>Ficus elastica</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Hoplolaimus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
<i>Ficus glomerata</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Hoplolaimus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
<i>Glyricidia maculata</i>	<i>Radopholus similis</i>	Jasy e Koshy, 1992.
<i>Ipomaea fistula</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Hoplolaimus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Tylenchus filiformis</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.

...continua...

TABELA 3, Cont.

<i>Leucaena leucocephala</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Hoan e Davide, 1979.
<i>Mangifera indica</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Melia azedarach</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Ahmad et al., 1991.
<i>Mentha pipertia</i>	<i>Ditylenchus miceliophagus</i>	Ganai, Kaul e Chabra, 1992.
<i>Nerium indicum</i>	<i>Tylenchorhynchus brassicae</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
<i>Nerium odorum</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Tylenchus filiformis</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Krishnamurthy e Murthy, 1993.
<i>Parthinium hysterophorus</i>	<i>Ditylenchus miceliophagus</i>	Ganai, Kaul e Chabra, 1992.
<i>Punica granatum</i>	<i>Helicotylenchus</i> sp.	Korayem, Hasabo e Ameen, 1993.
<i>Ricinus communis</i>	<i>Meloidogyne incognita</i> <i>Radopholus similis</i>	Rich et al., 1989. Jasy e Koshy, 1992.
<i>Rubus idaeus</i>	<i>Longidorus elongatus</i>	Taylor e Murrant, 1996.
<i>Ruta graveolens</i>	<i>Meloidogyne incognita</i> <i>Meloidogyne javanica</i>	Sasaneli, 1995. Sasaneli e D'Addabo, 1993.
	<i>Meloidogyne</i> spp.	Sasaneli e D'Addabo, 1993.
	<i>Xiphinema index</i>	Sasaneli, 1992.
<i>Tabernaemontana coronaria</i>	<i>Helicotylenchus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
<i>Tabernaemontana coronaria</i>	<i>Hoplolaimus indicus</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.
	<i>Tylenchus filiformis</i>	Siddiqui, Haseeb e Alam, 1992.

...continua...

TABELA 3, Cont.

<i>Tagetes erecta</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sankaranayanan e Sundarabanu, 1996.
	<i>Meloidogyne javanica</i>	Hussaini, Rao e Pandue, 1996.
<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Helicotylenchus</i> sp.	Korayem, Hasabo e Ameen, 1993.
<i>Xanthium strumarium</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Gosh e Sukul, 1992.

Os extratos vegetais também têm sido estudados quanto à patogenicidade e redução da população de fitonematóides. A observação de uma determinada área plantada com diversas espécies de plantas e com muitos gêneros de nematóides parasitas e de vida livre, levou ao estudo do efeito antagônico dos extratos de *Cassiope tetragena*, *Empetrum hermaphroditum* e *Betula pubescens* que apresentavam reduzida população de fitonematóides em seus sistemas radiculares. Os extratos alteraram a composição das espécies de nematóides na área e o índice de mortalidade das mesmas, além de reduzirem a taxa de reprodução e a diversidade de vários gêneros. A população de microrganismos não foi afetada, exceto quando se utilizou extratos de *Betula pubescens*, com aumento da presença de fungos, indicando que apesar dos aleloquímicos com propriedades nematicidas, os carboidratos dos extratos de folhas promoveram efeitos benéficos à microflora (Ruess et al., 1988).

Óleos essenciais de algumas plantas aromáticas têm demonstrado forte ação nematicida (Leela et al., 1992). O eugenol, um dos constituintes do óleo essencial de *Ocimum sanctum*, apresentou ação nematicida sistêmica (Bala e Sukul, 1987). Produtos obtidos de plantas como o látex de *Calotropis procera* e *Euphorbia caducifolia* (Siddiqui e Alam, 1988) e extratos de *Melia azedarach* e

Calotropis procera (Akhtar, Wani e Alam, 1992) são eficazes na redução populacional de fitonematóides quando empregados para o tratamento de sementes ou imersão de raízes.

2.3.3 Moléculas caracterizadas

Substâncias com atividade nematostática e ou nematicida, pertencentes a grupos químicos diferentes, já foram isoladas de algumas plantas. O cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.) foi uma das primeiras plantas estudadas, pois freqüentemente suprimia as populações de nematóides do solo, particularmente *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. Os compostos obtidos de *Tagetes* spp. que apresentaram ação supressiva foram '2-terthienyl' ('2,2'-5',2''-terthienyl'), '5-(3-buten-1-ynyl)-2,2'-bithienyl e derivados (Gommers, 1981).

Outra planta utilizada para suprimir populações de nematóides tem sido a *Crotalaria spectabilis*, da qual se isolou o alcalóide monocrotalina, inibidor de movimentos de juvenis de *Meloidogyne incognita* (Fassuolits e Skucas, 1969, citados por Chitwood, 1993). De *Helenium* sp., *Secale cereale* (cevada) e *Eragrostis curvula* foram isoladas, respectivamente, as substâncias tridec-1-en-3,5,7,9,11-pentino, ácido butírico e pirocatecol, que são compostos tóxicos a fitonematóides (Chitwood, 1993).

Dois compostos nematicidas foram isolados das raízes de aspargo (*Asparagus officinalis*), explicando-se assim a conhecida ação antagônica a nematóides. O primeiro é um glicosídeo de baixo peso molecular, com ação sistêmica, que é capaz de inibir a enzima acetilcolinesterase (Rohde e Jenkins, 1958; Rohde, 1960). Quanto ao segundo composto, ácido asparagúsico, não foi determinada a forma de ação (Takasugi, Yachida e Anetai, 1975).

Uma mistura de substâncias biologicamente ativas, incluindo os triterpenóides azadirachtin, salanin e meliantol, é encontrada em folhas, frutos, sementes e cascas de *Azadirachta indica* (nim). Tem sido relatado o controle de mais de 100 espécies de insetos, ácaros e nematóides por esses compostos segundo Ahmed e Graince (1986), citados por Ferraz e Valle (1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Produção de inóculo de *Meloidogyne incognita*

A partir de cultura pura de *Meloidogyne incognita*, mantida em tomateiros em casa-de-vegetação, obteve-se uma suspensão de ovos. O sistema radicular de tomateiros infestados foi lavado cuidadosamente em um balde, evitando o uso de água corrente para não danificar massas de ovos aderidas. A seguir as raízes foram picotadas em pedaços de 1-2 cm. Os ovos foram obtidos pela técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981), que consistiu em triturar as raízes picotadas no liquidificador por 20 segundos, a baixa rotação, em uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. A suspensão obtida foi vertida em peneira de 0,075 mm de abertura, sobre outra de 0,025 mm e lavada com jatos de água para eliminar o hipoclorito. As raízes foram expostas ao hipoclorito, por período total inferior a 4 minutos, isto é, o tempo de exposição somado ao tempo de lavagem das raízes trituradas. O material retido na peneira de 0,025 mm foi recolhido com o auxílio de jatos de água, em um béquer. Deixou-se a suspensão de ovos decantar por 30 minutos. A seguir eliminou-se parte do sobrenadante. Após contagem em caixa plástica colocada em microscópio de objetiva invertida, a suspensão resultante foi calibrada para 1.000 ovos/mL.

Foi preparada uma mistura de solo, esterco bovino curtido e areia na proporção de 2:1:1 (p/p/p). Essa mistura foi peneirada, tratada com brometo de metila ($200 \text{ cm}^3/\text{m}^3$ de mistura) durante 96 horas e espalhada sobre uma lona plástica, onde permaneceu por 5 dias. Depois de homogeneizada, uma amostra dessa mistura foi analisada no Departamento de Ciência do solo da Universidade Federal de Lavras (DCS/UFLA). Observou-se as seguintes características: pH

em água – 5,1 (acidez média); Carbono – 15 g.kg⁻¹ (médio); matéria orgânica – 26 g.kg⁻¹ (médio); areia – 500 g.kg⁻¹; limo – 120 g.kg⁻¹; argila – 380 g.kg⁻¹; P – 1 mg.kg⁻¹ (baixo); K – 28 mg.kg⁻¹; Ca – 9 mmol_c.dm⁻³ (baixo); Mg – 1 mmol_c.dm⁻³ (baixo); Al – 12 mmol_c.dm⁻³ (alto); V = (Saturação de Bases da CTC a pH 7) = 30% (baixo). De acordo com as recomendações para a cultura do tomate, foram utilizados 4,4 g de calcário dolomítico e 10 g do fertilizante 4-14-8 (4% de N, 14% de P e 8% de K) por litro da mistura.

Trinta vasos plásticos, contendo 3 kg da mistura acima citada, foram irrigados. Após a drenagem do excesso de água, abriu-se uma pequena cova no centro de cada um. Distribuiu-se por vaso uma muda de tomateiro ‘Santa Cruz’ cv. Santa Clara, a qual foi inoculada com 10.000 ovos, para obtenção de população purificada. A adubação de cobertura com N e K, foi realizada no decorrer do desenvolvimento das plantas. Aos 50 dias após a inoculação, realizaram-se cortes perineais nas fêmeas. Através dos aspectos morfológicos da região perineal, conforme descrito por Taylor e Sasser (1978), caracterizou-se a espécie como *Meloidogyne incognita*.

3.2 Isolamento de fungos

No isolamento de fungos predadores de nematóides, utilizou-se a centrifugação diferencial, descrita por Barron (1969) e de Nicolay e Sikora (1988), adaptada por Naves e Campos (1991). Foram pesados 150 gramas de solo, os quais foram suspensos em água, completando-se o volume para 350 mL. Agitou-se por 10 minutos e verteu-se a mistura obtida sobre peneira de 0,84 mm de abertura, lavando-se o material retido com 500 mL de água. O volume coletado, de aproximadamente 800 mL, foi passado em peneira de 0,25 mm e o material retido foi lavado, a seguir, com 400 mL de água. O filtrado foi

novamente agitado por 10 minutos, derramado na peneira de 0,15 mm e lavado com 600 mL de água. A seguir, realizou-se nova agitação do filtrado por 10 minutos para, a seguir, vertê-lo sobre a peneira de 0,044 mm, lavando-o com 600 mL de água. O volume total coletado, de mais ou menos 2.400 mL, foi centrifugado por 3 minutos a 680 g. O sobrenadante foi descartado e o precipitado obtido foi distribuído na superfície do meio ágar-água 2%, contido em placas de Petri, fazendo-se riscos em forma de cruz, pois nele estavam os esporos dos fungos predadores. Usou-se alça de platina flambada na transferência do precipitado para as placas de ágar-água 2% e trabalhou-se em câmara de fluxo laminar, para evitar contaminação. Depositou-se, por placa, na junção das riscas contendo o precipitado, pedaços de ágar-água (AA) contendo o nematóide isca, *Panagrellus redivivus*. As placas foram então etiquetadas e mantidas a 18 °C, para observações diárias durante 3 semanas, procurando-se encontrar estruturas predatórias e conídios sobre nematóides. Os conídios assim produzidos, foram transferidos asépticamente para placas de Petri contendo o meio batata-dextrose-ágar (PDA), através do uso de microscópio estereoscópio instalado na câmara de fluxo laminar, pois os conidióforos eram compridos, produzindo conídios distantes do meio contaminado, tornando possível a obtenção de culturas puras. Os fungos isolados a partir desta técnica foram *Arthrobotrys conoides*, *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys superba* e *Monacrosporium doedycoides* (Tabela 4).

Através da técnica de placas de Warcup (Warcup, 1950) foram obtidos fungos de solos de uma área cultivada com tomate infestado com *Meloidogyne* spp. Para isso, 1 mg de solo coletado e homogeneizado em um balde, foi espalhado com um bastão de vidro, sobre o meio malte-ágar (MA2) solidificado, em placas de Petri estéreis, contendo o antibiótico cloranfenicol, a 50 ppm. As placas foram incubadas a 18 °C e, quando colônias eram evidentes, foram repicadas para novas placas contendo o meio "synthetic nutrient-poor agar"

(SNA). Obtiveram-se assim, os fungos *Aspergillus flavus*, *Verticillium chlamydosporium*, *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* (isolados 2, 4 e 25), *Penicillium* Subgen. *Furcatum*, *Mortierella* sp. e *Trichoderma viride*.

TABELA 4 – Classificação dos fungos isolados e utilizados na obtenção de filtrados.

Fungos	Característica e referência bibliográfica
Ascomycetes mitospóricos (Hyphomycetes)	
1. <i>Arthrotrrys conoides</i> Drechsler	Clamidósporos amarelos; conídios com célula distal mais larga que a basal, com septo (Rubner, 1996).
2. <i>Arthrotrrys oligospora</i> Fres.	Clamidósporos amarelos; conidióforos não ramificados; conídios ovóides a periformes (Rubner, 1996).
3. <i>Arthrotrrys superba</i> Corda	Clamidósporos ausentes; células basal e distal do conídio de mesma largura, conídios alongados-elipsoidais, não constrictos no septo (Rubner, 1996).
4. <i>Aspergillus flavus</i> Link: Fr.	Conidióforos hialinos grandes; cabeça conidial (vesículas, fiálides, métulas e conídios) radiada; camada única de métulas que suporta as fiálides; conídios globosos a subglobosos, finamente ásperos, amarelo-esverdeados (Klich e Pitt, 1984).
5. <i>Cylindrocarpon magnusianum</i> (Sacc.) Wollenw.	Conidióforos ramificados; presença de clamidósporos intercalares ou terminais; conídios uniformes em tamanho, levemente curvados, de 0 a 3 septos (Domsch, Gams e Anderson, 1993).

...continua...

TABELA 4, Cont.

6. <i>Fusarium moniliforme</i> Shelden	Microconidióforos (monofiálides) presentes; microconídios em cadeias no micélio aéreo; ausência de clamidósporos (Nelson, Toussoun e Marasas, 1983).
7. <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht	Clamidósporos presentes; microconídios produzidos em falsas cabeças em pequenas monofiálides; macroconídios levemente curvados (Nelson, Toussoun e Marasas, 1983).
8. <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Appel & Wollenw. Emend. Snyder & Hans	Macroconídios com 3 septos, levemente curvados, com ápices redondos; microconídios abundantes, unicelulares, em cabeças mucilaginosas, em fiálides longas; clamidósporos abundantes (Nelson, Toussoun e Marasas, 1983).
9. <i>Monacrosporium doedyoides</i> Drechsler	Conidióforo com ápice carregado de conídios; Conídios sem filamento terminal, com 2 septos, elipsóides. Nematóides são capturados por anéis constritivos (Liu e Zhang, 1994).
10. <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	Conidióforos pigmentados, rugosos, eretos, com métulas e fiálides densas; conídios elipsoidais a fusiformes (Domsch, Gams e Anderson, 1993).
11. <i>Paecilomyces variotii</i> Bainer	Colônias de odor aromático; conidióforos ramificados, repetidamente verticilados; conídios elipsoidais, de diferentes tamanhos; clamidósporos presentes (Domsch, Gams e Anderson, 1993).

...continua...

TABELA 4, Cont.

12. <i>Penicillium</i> Subgen. <i>Furcatum</i> Pitt	Conidióforos eretos, hialinos, em grande número consistindo de um simples estipe. Penicillus (métula, fiálides e conídios) formado terminalmente no estipe. Possui até 5 métulas em cada estipe. Fiálides em forma de frasco. Conídios originários de fiálides são globosos e hialinos. (Pitt, 1988).
13. <i>Trichoderma viride</i> Pers. Ex Gray	Conidióforos em ramificações simples, piramidais; fiálides irregularmente dispostas freqüentemente solitárias; conídios globosos, ovoides, variáveis, verrugosos (Domsch, Gams e Anderson, 1993).
14. <i>Verticillium chlamydosporium</i> Goddard	Dictioclamidósporos abundantemente produzidos no micélio aéreo (encrustação de 6-9 células); conídios com cabeças delgadas, elipsoidais, normalmente com uma base ligeiramente apiculada (Domsch, Gams e Anderson, 1993).

Ascomycetes mitospóricos (Coelomycetes)

15. <i>Coniothyrium sporulosum</i> (W. Gams & Domsch) van der Aa	Picnídios abundantes, com paredes de cor palha, arranjados em zonas, pigmentos amarelos irregularmente exudados no ágar, usualmente limitados em zonas da colônia; conídios lisos, marrons, visíveis através da parede transparente do picnídio (Domsch, Gams e Anderson, 1993).
--	--

...continua...

TABELA 4, Cont.

Ascomycota

16. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary Esclerócio preto, formando ao germinar apotécio (Domsch, Gams e Anderson, 1993).

Zygomycota (Mucorales)

17. *Cunninghamella elegans* Lendner Esporangióforos com ramificações verticiladas ou solitárias; vesículas subglobosas a periformes; esporângios globosos ou elipsoidais, verrugosos, hialinos (Domsch, Gams e Anderson, 1993).
18. *Mortierella* sp. Coemans Micélio pobre, rente ao substrato; esporangióforos hialinos; esporângios globosos (Domsch, Gams e Anderson, 1993).
-

Fungos também foram obtidos de fêmeas de *Meloidogyne* spp. Amostras de raízes de café (*Coffea arabica*) e tomate (*Lycopersicon esculentum*) infestadas pelo nematóide das galhas, *Meloidogyne* spp., foram coletadas e acondicionadas em sacos plásticos umedecidos, para impedir o ressecamento, e usadas para extração de fêmeas. No laboratório, as raízes infestadas foram lavadas em água corrente, de forma a eliminar as partículas de solo.

Com o uso de microscópio estereoscópio e estilete, as fêmeas foram cuidadosamente retiradas das galhas e transferidas para uma placa de Petri contendo água destilada e esterilizada, para posterior isolamento de fungos. Para isto, quatro fêmeas foram colocadas equidistantemente, em placas contendo o meio AA, acrescido do antibiótico cloranfenicol a 50 ppm. A seguir, as placas foram fechadas, vedadas com rolopack e levadas para câmara de incubação, onde foram mantidas à temperatura constante de 18 °C, por 7 dias. As colônias

fúngicas crescidas sobre as fêmeas foram repicadas cuidadosamente, com o auxílio de um estilete flambado, para placas de Petri com o meio batata-dextrose-agar (PDA). Após sucessivas repicagens, obtiveram-se culturas puras dos fungos *Cylindrocarpon magnusianum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Paecilomyces lilacinus* (isolados 01 e 02) e *Paecilomyces variotii*.

Os fungos *Coniothyrium sporulosum* e *Sclerotinia sclerotiorum* já faziam parte da coleção de culturas puras, obtidas no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitopatologia da UFLA.

Na identificação das espécies fúngicas, utilizaram-se chaves de classificação atualizadas (Tabela 4). Os fungos, em culturas puras, foram repicados para tubos contendo o meio "synthetic nutrient-poor agar (SNA) até o momento da sua utilização.

3.3 Amostragem de plantas e de esterco

Na escolha das plantas para a obtenção dos extratos, baseou-se no interesse regional e na revisão de literatura, sobre aquelas mais promissoras relativamente à ocorrência de substâncias antagônicas a nematóides. Plantas frescas foram lavadas com água de torneira para a retirada de partículas de poeira e tiveram selecionadas as partes não atacadas por organismos fitopatogênicos. Depois de secas à temperatura ambiente, as plantas listadas na Tabela 5 foram pesadas e cortadas em pequenos pedaços para a realização das etapas de obtenção de extratos.

Foram utilizados esterco curtidos de aves, bovinos e de suínos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, para a obtenção de extratos aquosos.

TABELA 5 – Espécies de plantas coletadas no Campus da UFPA e utilizadas na obtenção dos extratos.

Nome comum	Nome Científico	Família
Arruda	<i>Ruta graveolens</i> L.	Rutaceae
Braquiária	<i>Brachiaria decumbens</i> Stapf.	Poaceae
Café	<i>Coffea arabica</i> L.	Rubiaceae
Carqueja	<i>Bacharis trimera</i> (Less) D. C.	Compositae
Cravo-de-defunto	<i>Tagetes patula</i> L.	Compositae
Erva-de-S ^{ta} Maria	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Chenopodiaceae
Feijão-guandu	<i>Cajanus cajan</i> (L.) Mill	Leguminosae
Fumo	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Solanaceae
Funcho	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Umbelliferae
Leucena	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit	Leguminosae
Mamão	<i>Carica papaya</i> L.	Caricaceae
Mamona	<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae

3.4 Obtenção de filtrados fúngicos e de extratos vegetais, de esterco animais e de micélios fúngicos

Foram obtidas culturas puras dos fungos conhecidamente antagonistas aos nematóides do gênero *Meloidogyne* spp., como descrito no item 3.2, sendo eles: predadores – *Arthrobotrys conoides*, *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys superba* e *Monacrosporium doedycoides*; parasitas de ovos – *Paecilomyces lilacinus* (isolados 01 e 02), *Paecilomyces variotii* e *Verticillium chlamydosporium*, e dos fungos não antagonistas *Aspergillus flavus*, *Cylindrocarpon magnusianum*, *Coniothyrium sporulosum*, *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* (isolados 2, 4 e 25), *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Mortierella* sp., *Penicillium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Trichoderma viride*. Discos de 5 mm de diâmetro foram retirados da cultura pura desses fungos cultivados em meio “synthetic nutrient poor-agar (SNA) e

transferidos para placas de Petri esterilizadas, contendo o meio aveia-ágar (OA) e incubadas a 18 °C durante 10 dias, para a obtenção de inóculo suficiente para o estabelecimento dos ensaios. O filtrado fúngico foi obtido em meio líquido Czapek, sem ajustar o pH. Cem mL do meio foram transferidos para frascos Erlenmeyers de 250 mL e esterilizados a 121 °C, em autoclave, durante 20 minutos. Três discos de 5 mm de diâmetro de cultura pura fúngica foram transferidos para cada um desses Erlenmeyers e incubados durante 15 dias a 25 °C, em agitador orbital “shaker”, a 160 rpm. Ao final desse período, todo o conteúdo dos frascos foi passado em filtro de papel Whatman nº 1, por duas vezes, utilizando-se uma bomba de sucção a 500 mm de Hg, e em seguida passado em uma membrana Durapore de 0,22 µm de abertura e de 4,7 mm de diâmetro. O filtrado assim obtido foi estocado a 4 °C, em refrigerador, até ser utilizado. O micélio fúngico retido no filtro foi pesado. Os micélios de *Arthrobotrys conoides*, *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys superba*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Monacrosporium doedycoides* e *Paecilomyces lilacinus* foram utilizados para o preparo de extratos.

Foram obtidos extratos aquosos e/ou orgânicos de folhas, ou do produto do beneficiamento de grãos, de raízes e de vagens das plantas e extratos de esterco animais. As etapas de obtenção dos extratos podem ser acompanhadas na Figura 1. Para a obtenção de extratos aquosos, 40 g do material de estudo (partes das plantas picadas ou de esterco) foram colocados em um béquer, e adicionados 1.000 mL de água destilada fervente, seguida de agitação. O béquer foi então, coberto com papel alumínio e a mistura foi deixada em repouso. Após o esfriamento da mesma, o conteúdo do béquer foi passado em filtros de papel Whatman nº 1, utilizando-se um quitasato, um funil de Buchner (funil de porcelana) e uma bomba de sucção para a separação da parte líquida (extrato aquoso) da parte sólida. Para a obtenção de extratos aquosos de esterco, antes de se passar a solução pelo filtro de papel, ela foi centrifugada a 680 g.

Para a obtenção dos extratos orgânicos, 40 g de material vegetal picado em pequenos pedaços e 120 mL de hexano, foram adicionados a um balão de 250 mL com fundo redondo e junta esmerilhada. Acoplou-se um condensador de refluxo a esse balão e a mistura foi refluxada por 15 minutos, através da utilização de uma manta de aquecimento. Em seguida a solução foi filtrada em filtros de vidro sinterizado, separando-se os resíduos e obtendo-se uma primeira solução A. O resíduo retido no filtro foi deixado na câmara de exaustão para evaporar o solvente hexano e em seguida foi submetido aos mesmos procedimentos descritos anteriormente, sendo que desta vez utilizou-se acetato de etila como solvente, o que permitiu a obtenção da solução B e de um novo resíduo. Este também foi submetido a extração com metanol, o que deu origem a solução C. As soluções A, B e C foram separadamente concentradas em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, a 35 °C, até a remoção total dos solventes, o que deu origem a resíduos que foram separadamente dissolvidos em 1.000 mL de solução do surfactante não iônico Tween 80 a 1% (v/v) em água destilada.

Em vários casos foi feita apenas uma extração com solvente orgânico. Nesses o utilizado foi metanol.

Micélios fúngicos obtidos foram submetidos aos mesmos procedimentos adotados para a obtenção de extratos metanólicos.

As soluções obtidas foram armazenadas em câmara fria a 8 °C, até o momento da sua utilização.

3.5 Desinfestação superficial de ovos e juvenis do segundo estágio (J2)

Os ovos obtidos pela técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Bonetti e Ferraz (1981), como descrito em 3.1, foram submetidos a duas etapas

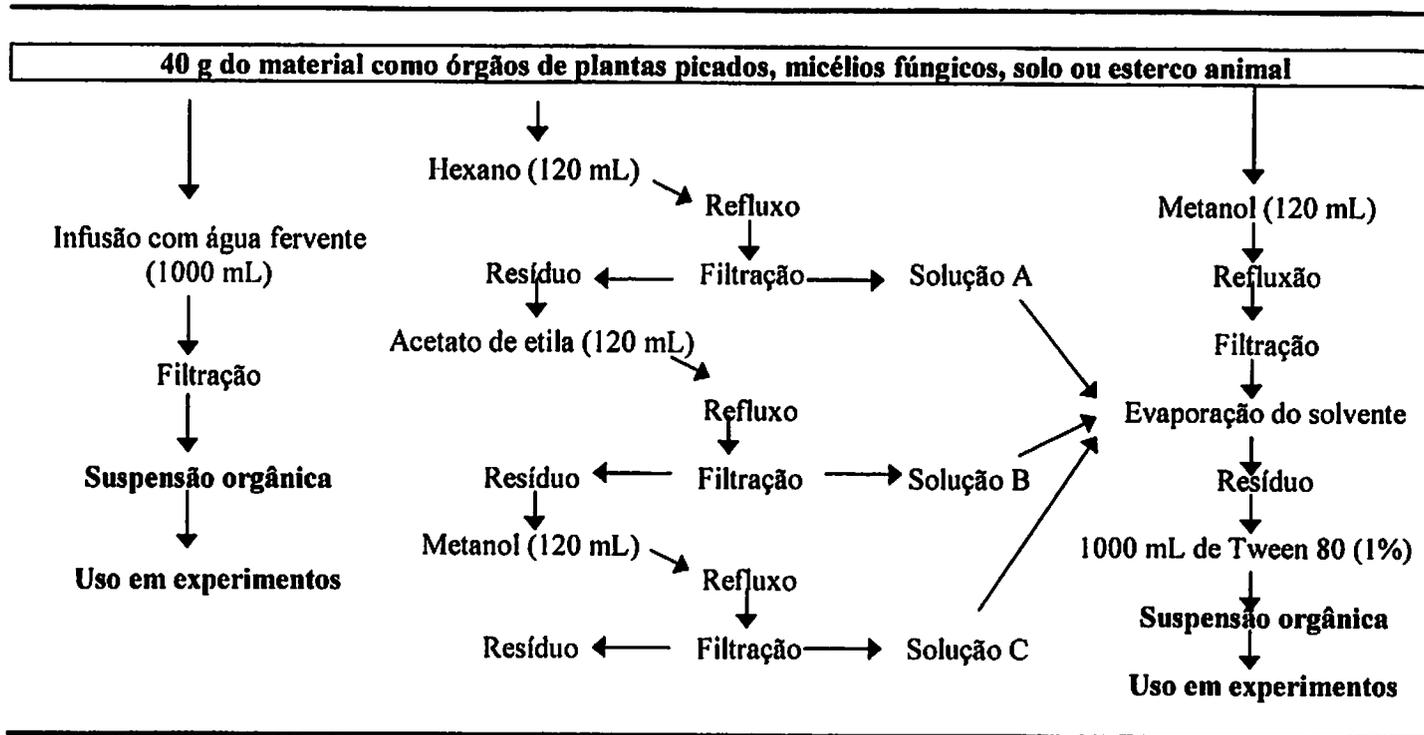


FIGURA 1 – Etapas seguidas na obtenção das suspensões orgânicas.

de desinfestação superficial. 1) Utilizou-se a técnica de Coolen e D'Herde (1972), através da qual os ovos foram separados de resíduos de raízes e de outras impurezas. Para isto colocou-se a suspensão de ovos em tubos de centrífuga de 50 mL, juntamente com 3 g de caulim para serem centrifugados durante 5 minutos, a 680 g. Foi eliminado o líquido sobrenadante dos tubos que, a seguir, foram completados com solução de sacarose (0,5 g/mL) em água destilada. Agitou-se bem os tubos para colocar em suspensão todo o precipitado. Centrifugou-se por 60 segundos, a 680 g, e derramou-se cuidadosamente o sobrenadante numa peneira de 0,025 mm, sem agitar o precipitado. Recolheram-se os ovos que ficaram retidos na peneira, em um béquer de 1.000 mL, utilizando-se de uma piseta, contendo 500 mL de água destilada e esterilizada. Três alíquotas de 1 mL foram retiradas e colocadas em caixa plástica de contagem e levadas ao microscópio estereoscópio para a contagem de ovos. 2) Em câmara de fluxo laminar, toda a suspensão de ovos foi passada três vezes em água destilada e esterilizada, em peneiras esterilizadas de 0,025 mm, e então colocada em um béquer coberto com papel alumínio esterilizado, e guardada em câmara fria a 8 °C, até o momento do estabelecimento dos ensaios. Para a obtenção de juvenis, foi utilizada uma câmara de eclosão formada com tela e papel de espessura fina, colocados num béquer esterilizado. Montou-se a câmara de eclosão sem aeração, para evitar contaminações.

3.6 Efeitos de filtrados fúngicos e de extratos na eclosão, motilidade e na mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)

10 mL de filtrados fúngicos ou de extratos obtidos como descrito em 3.4 foram colocados em placas de Petri estéreis, de 4,5 cm de diâmetro. A seguir, foi pipetado 1 mL de suspensão previamente calibrada, com 1.000 ovos de

Meloidogyne incognita, e a mistura final foi incubada, a 25 °C, em sala climatizada. Cada placa foi vedada com rolopak e cada uma delas constituiu uma unidade experimental. Foram estabelecidas 6 repetições. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC). Quinze dias após foi realizada a avaliação da percentagem de J2 eclodidos.

Para o teste de motilidade, 1 mL de suspensão de 200 J2 de *Meloidogyne incognita* foi colocado em placas de Petri de 4,5 cm de diâmetro. Em seguida, foram colocados 10 mL de filtrado fúngico ou extrato. Cada placa foi vedada com rolopak. Foram estabelecidas 6 repetições. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC). Uma alíquota do filtrado foi guardada para leitura de pH num íon analisador modelo EC – 213. Constituíram-se tratamentos, os filtrados fúngicos ou extratos, além de três testemunhas: 1 – 10 mL de água destilada em substituição aos filtrados ou extratos de planta ou de esterco animal; 2 – 10 mL de meio de cultura Czapek; 3 - 10 mL de Aldicarbe, a 50 ppm.

Após 12 horas de exposição ao filtrado ou extrato, foi avaliado o número de J2 aparentemente inativos. Para tanto, colocou-se a placa de Petri sobre um plástico que possuía um reticulado feito com caneta, realizando-se as leituras em microscópio de objetiva invertida. Nematóides foram considerados inativos quando apresentaram o corpo com aspecto retilíneo, quando sob efeito de filtrados e de extratos; ou retorcido, o que ocorria quando os J2 eram submetidos ao Aldicarbe. A seguir, os J2 eram transferidos para tela de 0,025 mm, substituindo-se o filtrado por água de torneira. Espécimens que permaneceram inativados após 12 horas, em água, foram classificados como mortos.

3.7 Tempo de exposição de ovos e juvenis do segundo estágio (J2) aos filtrados fúngicos ou aos extratos

Empregaram-se extratos de cascas do grãos de *Coffea arabica*, de folhas de *Bacharis trimera* e de raízes de *Brachiaria decumbens* e filtrados de *Arthrobotrys conoides*, *Fusarium solani* e *Fusarium moniliforme*, produzidos como descrito em 3.4.

Os ovos e J2 foram produzidos e desinfestados como descrito em 3.1 e 3.5, respectivamente. Empregou-se apenas uma concentração do filtrado e de extrato, isto é, sem diluição a partir da original. No estabelecimento do ensaio seguiu-se a mesma metodologia descrita em 3.6, avaliando o efeito na eclosão, motilidade e mortalidade de J2. A avaliação do ensaio, entretanto, foi feita contando o número de J2 eclodidos, a cada 24 horas, até 15 dias. A motilidade de J2 foi avaliada, de 30 em 30 minutos, até 36 horas.

3.8 Tempo de incubação de *Paecilomyces lilacinus* para produção de filtrado

O fungo foi crescido em batata-dextrose-agar (PDA) e repicado para meio Czapek, em 30 frascos erlenmeyer, para produção de metabólitos secundários conforme descrito em 3.4. Os frascos foram colocados em 'shaker' a temperatura de 25 ° C. A cada 24 horas, retirou-se um frasco e realizou-se a filtração como descrito em 3.4. O filtrado obtido era armazenado a 2 °C. Quando o filtrado obtido do último frasco incubado foi obtido, fez-se o descongelamento dos demais e montou-se o ensaio como descrito em 3.6, com 30 épocas de coleta de filtrado (como testemunha, empregaram-se água, meio Czapek e Aldicarbe). Os ovos e os J2 foram obtidos e desinfestados como descrito em 3.1 e 3.5. A avaliação do ensaio foi feita como descrita em 3.6. O

delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC), em 6 repetições.

3.9 Efeito da diluição de filtrados fúngicos e de extratos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)

Os filtrados fúngicos e extratos foram obtidos conforme descrito em 3.4 e diluídos em água destilada e esterilizada, obtendo-se assim as diluições 1:0, 1:1, 1:2 e 1:3. Em seguida essas dosagens foram colocadas em contato com os ovos ou J2 e para avaliação utilizaram-se as metodologias descritas em 3.6.

3.10 Efeitos de filtrados fúngicos e de extratos concentrados na patogenicidade e na população de *Meloidogyne incognita* em tomateiros (*Lycopersicon esculentum*), cultivados em casa-de-vegetação

Os filtrados obtidos conforme descrito em 3.4 foram concentrados. Para tanto, erlenmeyers contendo 150 mL de filtrado foram submetidos à liofilização reduzindo-se o volume até 60% ou 20% do volume inicial.

Em vasos de 3 litros foi colocado substrato formado da mistura solo e areia (2:1) (p/p), como descrita no item 3.1, suprimindo-se o esterco para evitar sua interferência nos ensaios.

Mudas de tomate 'Santa Cruz', cv. Santa Clara, foram previamente obtidas, após semeadura em copinhos plásticos de 50 cm³ de capacidade e 4 cm de diâmetro contendo substrato esterilizado. Aos 8 dias após a germinação, foi feito o desbaste, deixando-se uma planta por copinho para se evitar o

estiolamento das mudas. Para o transplântio, foram selecionadas e empregadas apenas mudas de tamanho uniforme e vigorosas.

Aos 19 dias após a germinação, foi feito o transplântio para os vasos de plástico, quando então foi realizada a inoculação. No transplântio, retirou-se cuidadosamente todo o conteúdo do copinho evitando-se a danificação do sistema radicular das mudinhas. Ao mesmo tempo, o solo dos vasos foi molhado e no centro dos mesmos fez-se uma abertura com uma espátula, facilitando-se a colocação das mudas.

Antes do transplântio, as mudas receberam 10 mL do filtrado fúngico nos sistemas radiculares. A seguir, distribuíram-se 5 mL de suspensão contendo 5.000 ovos de *Meloidogyne incognita*. As mudas foram então colocadas na cova feita e logo após o substrato foi convenientemente comprimido. Após 7 dias do transplântio realizou-se a primeira adubação, com 4 g de fertilizante 4-14-8 (4% N, 14% P, 8% K) por vaso. Aos 15 dias, realizou-se a segunda adubação com 20 g de 12-0-16 (12% N, 0% P, 16% K), também por vaso.

Para esse experimento foram utilizados os 5 filtrados fúngicos selecionados a partir dos ensaios *in vitro* descritos em 3.6, além de 10 testemunhas (Tabela 6).

As doses dos filtrados fúngicos aplicadas nas mudas inoculadas com ovos do nematóide foram: 0 = sem filtrado; 1 = filtrado concentrado até 60% do volume inicial (N1); 2 = filtrado concentrado até 20% do volume inicial (N2).

Adotou-se o delineamento experimental em blocos casualizados (DBC), no esquema fatorial 5 x 3 + 10 (cinco filtrados fúngicos e 3 doses, além de 10 tratamentos adicionais (testemunhas), com quatro repetições.

Extratos obtidos como descrito em 3.4, foram concentrados. Para tanto foram obtidos extratos aquosos de esterco de aves e de vagens de *Leucaena leucocephala*, e extratos metanólicos de folhas de *Brachiaria decumbens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Ricinus communis* e de *Ruta graveolens* e do

produto do beneficiamento de grãos de *Coffea arabica*, de forma análoga a descrita no item 3.4. Porém, ao invés de 1000 mL de água destilada (para extratos aquosos) ou de Tween a 1% (para os extratos metanólicos) foram utilizados 600 mL e 200 mL respectivamente, obtendo-se extratos concentrados até 60 e 20% do volume inicial.

TABELA 6 – Testemunhas utilizadas no estabelecimento do ensaio com filtrados em casa-de-vegetação.

Testemunha	Característica
T1	inoculada apenas com <i>Meloidogyne incognita</i> .
T2	inoculada com <i>Meloidogyne incognita</i> e aplicado Czapek sem crescimento fúngico e concentrado até 20% do volume inicial.
T3	inoculada com <i>Meloidogyne incognita</i> , porém com aplicação do Aldicarbe.
T4	sem inoculação de <i>Meloidogyne incognita</i> , porém com aplicação de Czapek concentrado até 20% do volume inicial.
T5	sem inoculação de <i>Meloidogyne incognita</i> e sem aplicação de filtrado fúngico.
T6	sem inoculação de <i>Meloidogyne incognita</i> , porém com aplicação de filtrado de <i>Cunninghamella elegans</i> .
T7	idem com aplicação de filtrado de <i>Fusarium moniliforme</i> .
T8	idem com aplicação de filtrado de <i>Mortierella</i> sp.
T9	idem com aplicação de filtrado de <i>Paecilomyces lilacinus</i> .
T10	idem com aplicação de filtrado de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .

No estabelecimento do experimento seguiram-se as mesmas etapas descritas anteriormente para filtrados fúngicos. Foram selecionados 7 extratos através dos ensaios *in vitro*, descritos em 3.6., além de 12 testemunhas (Tabela 7).

TABELA 7 – Testemunhas utilizadas no estabelecimento do ensaio com extratos de plantas e de esterco animais em casa-de-vegetação.

Testemunhas	Características
T1	inoculada com <i>Meloidogyne incognita</i> .
T2	inoculada com <i>Meloidogyne incognita</i> e aplicado Tween 1%.
T3	inoculada com <i>Meloidogyne incognita</i> , porém com aplicação do Aldicarbe.
T4	sem inoculação de <i>Meloidogyne incognita</i> , porém com aplicação de Tween 1%.
T5	sem inoculação de <i>Meloidogyne incognita</i> e sem aplicação de extratos.
T6	sem inoculação de <i>Meloidogyne incognita</i> , porém com aplicação de extrato obtido de <i>Brachiaria decumbens</i> .
T7	idem com aplicação de <i>Chenopodium ambrosioides</i> .
T8	idem com aplicação de <i>Coffea arabica</i> .
T9	idem com aplicação de esterco de aves.
T10	idem com aplicação de <i>Leucaena leucocephala</i> .
T11	idem com aplicação de <i>Ricinus communis</i> .
T12	idem com aplicação de <i>Ruta graveolens</i> .

As doses dos extratos empregados nas plantas inoculadas com ovos do nematóide foram: 0 = sem extrato; 1 = extratos concentrados até 60% do volume inicial (N1); 2 = extratos concentrados até 20% do volume inicial (N2).

Vinte dias após a inoculação do nematóide foram avaliados os seguintes parâmetros: número de ovos/sistema radicular, o que foi obtido pelo processo descrito no item 3.1; peso fresco das plantas; e percentagem visual de danos decorrentes da adição de filtrados e extratos nos tomateiros, incluindo enrugamento, aspecto de murcha, arroxamento das folhas e redução do tamanho das plantas.

Durante o período do experimento, colheram-se dados diários de temperatura no interior da casa-de-vegetação, cuja variação foi de 15,6 °C a 44,6 °C.

3.11 Análise de variância

Os resultados obtidos nos ensaios descritos nos itens 3.6, 3.7 e 3.9 foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$ e os resultados obtidos nos ensaios descritos no item 3.10 foram transformados em $\sqrt{x + 0.5}$. A variável 'x' foi representada pelo número de J2, ovos e peso verde de plantas, obtidos de cada parcela dos tratamentos utilizados. A transformação dos dados foi necessária para a sua adequação aos métodos estatísticos. Logo em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância e efetuados testes de médias, como teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989) e de Scott e Knott (1974). As interações que foram significativas para os dados obtidos nos itens 3.9 e 3.10 foram desdobradas. Os resultados obtidos no ensaio descrito no item 3.8 foram ajustados a curvas, através de equações estimadas, que apresentaram coeficientes de determinação apropriados, o que é confirmado pelos valores de R^2 .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito de filtrados fúngicos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* e na patogenicidade desse nematóide em tomateiros

4.1.1 Eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)

Todos os filtrados fúngicos reduziram significativamente a eclosão e a motilidade de J2 de *Meloidogyne incognita*, quando comparados com a testemunha 1 (água) ($P \leq 0,05$) (Tabela 8). Cinco filtrados, *Paecilomyces lilacinus* isolados 01 e 02, *Fusarium moniliforme* isolados 2 e 25 e *Fusarium oxysporum*, causaram mortalidade igual ou superior à observada em Aldicarbe e reduziram a eclosão em mais de 50% em relação à testemunha com água (testemunha 1) (Tabela 8). Seis filtrados, *Arthrobotrys oligospora*, *Aspergillus flavus*, *Cunninghamella elegans*, *Cylindrocarpon magnusianum*, *Mortierella* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum* induziram mortalidade em J2 igual a 50% e até 99% daquela ocorrida na presença de Aldicarbe (Tabela 8), caracterizando assim, um grupo intermediário de espécies fúngicas com relação à capacidade de produção de metabólitos tóxicos a J2 de *Meloidogyne incognita*. *Fusarium solani* não demonstrou efeitos tóxicos significativos comparados com aqueles em Aldicarbe (Tabela 8), entretanto Mani e Sethi (1984) obtiveram efeitos tóxicos significativos de filtrados desse fungo contra juvenis de *Meloidogyne incognita*, quando avaliaram a mortalidade 48 horas após o estabelecimento dos ensaios.

As culturas fúngicas com efeitos tóxicos a J2 inferiores a 50% do obtido com Aldicarbe, talvez possam ter sua capacidade aumentada, se forem cultivadas em outros meios de cultura.

TABELA 8 – Efeito de filtrados de culturas fúngicas, do nematicida Aldicarbe, meio Czapek sem crescimento fúngico e água, na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Tratamento	pH do filtrado	Peso micélio (g)	J2 imóveis (%)	J2 mortos (%)	Eclosão (%)
Ascomycetes mitospóricos (Hyphomycetes)					
<i>Arthrobotrys conoides</i>	7,39	0,28	17 h	8 n	72 p
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	7,73	0,30	41 f	56 g	69 n
<i>Arthrobotrys superba</i>	7,60	0,40	8 i	14 l	78 r
<i>Aspergillus flavus</i>	8,39	0,90	98 a	55 g	35 g
<i>Cylindrocarpon magnusianum</i>	6,08	0,94	97 b	49 h	40 h
<i>Fusarium moniliforme</i> isolado 2	6,25	0,64	97 b	96 c	10 c
<i>Fusarium moniliforme</i> isolado 4	6,06	1,40	92 c	20 k	9 b
<i>Fusarium moniliforme</i> isolado 25	5,26	1,60	98 a	90 d	12 d
<i>Fusarium oxysporum</i>	5,06	1,60	98 a	98 b	3 a
<i>Fusarium solani</i>	4,81	3,70	97 b	9 m	42 i
<i>Monacrosporium doedycoides</i>	5,05	0,28	7 i	6 q	70 o
<i>Paecilomyces lilacinus</i> isolado 01	5,21	3,16	99 a	99 a	40 h
<i>Paecilomyces lilacinus</i> isolado 02	5,62	2,10	97 b	99 a	43 i
<i>Paecilomyces variotii</i>	6,56	1,50	97 b	42 i	76 q
<i>Penicillium</i> Subgen. <i>Furcatum</i>	3,96	2,60	37 g	10 m	58 k
<i>Trichoderma viride</i>	7,69	0,70	83 e	8 n	86 s
<i>Verticillium chlamydosporium</i>	6,13	1,30	94 c	35 j	76 q
Ascomycetes mitospóricos (Coelomycetes)					
<i>Coniothyrium sporulosum</i>	7,12	2,33	8 i	5 p	67 m
Ascomycota					
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	4,83	1,91	89 d	48 h	50 j
Zygomycota (Mucorales)					
<i>Cunninghamella elegans</i>	7,46	1,62	99 a	84 e	59 l
<i>Mortierella</i> sp.	5,76	1,96	98 a	63 f	32 f
Testemunha 1 (água)	-	-	2 k	2 q	89 t
Testemunha 2 (meio Czapek)	-	-	3 j	5 p	85 s
Testemunha 3 (Aldicarbe)	-	-	94 c	90 d	14 e

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

Por outro lado, efeitos distintos na mortalidade, motilidade ou na eclosão, ocorreram com vários filtrados. Por exemplo, filtrados de *Aspergillus flavus*, *Cylindrocarpon magnusianum*, *Fusarium moniliforme* isolado 4, *Fusarium solani* e *Mortierella* sp. induziram reduções maiores de 50% na eclosão de J2 de *Meloidogyne incognita*, quando comparados com aquela em água (Tabela 8). Esses filtrados nem sempre induziram mortalidade igual ou superior a 50% daquela ocorrida em Aldicarbe (Tabela 8). Pode-se estabelecer uma classe de filtrados com efeito sobre a eclosão igual ou 50% inferior ao observado com Aldicarbe.

A motilidade pode ser reduzida temporariamente, sem levar a morte do J2 (Tabela 8). Quinze dos vinte e um filtrados testados induziram redução da motilidade de forma significativa. Desses, apenas filtrados de *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme* isolado 4, *Paecilomyces variotii* e *Verticillium chlamydosporium*, causaram mortalidade inferior a 50% daquela ocorrida na presença de Aldicarbe (Tabela 8).

Observou-se que os J2 de *Meloidogyne incognita* mortos pelo efeito do Aldicarbe tinham o corpo retorcido, enquanto aqueles mortos pelo efeito tóxico de filtrados fúngicos apresentaram o corpo distendido.

A produção de metabólito tóxico a fitonematóide não depende diretamente da quantidade de micélio que o fungo forma. Fungos como *Fusarium solani* e *Penicillium* Subgen. *Furcatum* alcançam grande massa micelial, entretanto, não sintetizaram substâncias com razoável toxicidade a J2. Por outro lado, *Fusarium moniliforme* isolados 2 e 25 produzem pouca massa micelial, porém excretam no meio de cultura metabólitos altamente tóxicos a J2 de *Meloidogyne incognita* (Tabela 8). Culturas de *Fusarium moniliforme* não têm sido estudadas com relação à toxicidade a nematóides.

Os fungos conhecidamente predadores de nematóides como *Arthrobotrys conoides*, *Arthrobotrys superba* e *Monacrosporium doedycoides* não

apresentaram produção significativa de filtrados tóxicos, indicando claramente que não secretam metabólitos durante o ataque a nematóides mas somente estruturas de captura como anéis constritivos, anéis não constritivos ou hifas adesivas.

4.1.2 Tempo de exposição de ovos e juvenis do segundo estágio (J2)

O efeito tóxico dos metabólitos produzidos por *Fusarium solani* e *Fusarium moniliforme* manifestou-se rapidamente em J2 de *Meloidogyne incognita* (Figura 2). Filtrados de *Fusarium moniliforme* imobilizaram 97% de J2 em 3 horas e 30 minutos. Já filtrados de *Fusarium solani*, imobilizaram 91% em 6 horas. O nematicida Aldicarbe, imobilizou 95% dos J2 em 30 minutos. Pouco efeito tóxico em J2 observou-se com filtrado de *Arthrobotrys conoides*. Em 14 horas apenas 17% dos J2 estavam imobilizados. Em água, 97% dos J2 permaneceram móveis. Após esses eventos iniciais não se observou aumento da imobilidade até o final do ensaio (36 horas) (Figura 2A). Tais resultados estão em consonância com aqueles relatados por Hallman e Sikora (1996), que registraram 80% de inativação de J2 de *Meloidogyne incognita* em 30 minutos de contato com filtrados de *Fusarium oxysporum*. Com exposições por períodos de tempo superiores a 60 minutos, obtiveram-se 100% de inativação de J2.

As taxas de mortalidade foram de 94%, 12%, 10% e 92% com filtrados de *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Arthrobotrys conoides* e Aldicarbe, respectivamente (Figura 2B).

Quando J2 foram expostos a filtrado de *Fusarium moniliforme* observou-se a desintegração das estruturas internas do nematóide, ocasionando a flutuação dos J2. Observação semelhante foi feita também por Hallman e Sikora (1996).

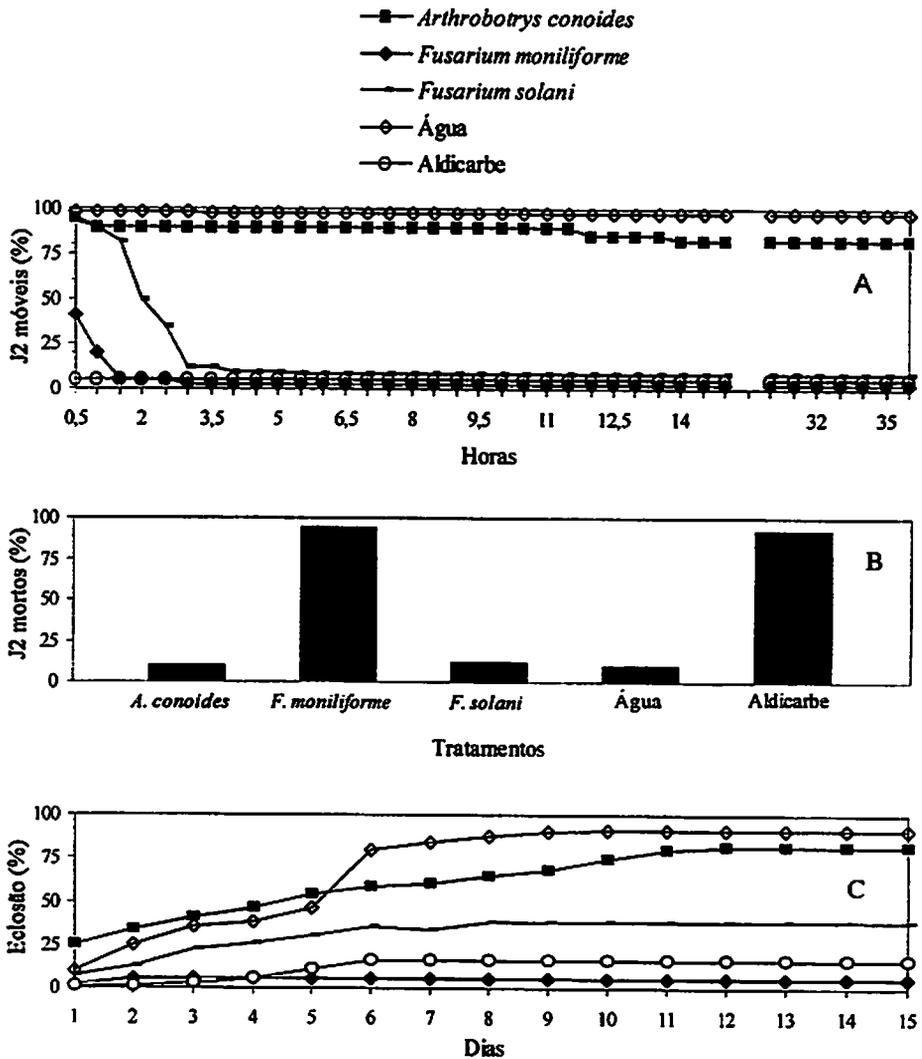


FIGURA 2 – Efeito de filtrados fúngicos na motilidade (A), mortalidade (B) (avaliada apenas 36 horas após o início do ensaio) e na eclosão (C) de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em períodos curtos de tempo.

Filtrados de *Fusarium moniliforme* também afetaram a eclosão, reduzindo-a de forma rápida e constante, em intensidade maior do que o próprio nematicida Aldicarbe. Já filtrados de *Fusarium solani* reduziram a eclosão em torno de 53%. Observa-se que esses efeitos evoluíram até 5 dias e daí mantiveram-se constantes até o final do ensaio (15 dias) (Figura 2C). O filtrado de *Arthrobotrys conoides* teve índices de eclosão próximos àquele em água (testemunha) (Figura 2C).

Enquanto na motilidade e mortalidade os efeitos tóxicos se manifestaram em 3 horas e 30 minutos, na eclosão eles ocorreram até 5 dias. Esta diferença no tempo de ação desses metabólitos pode indicar talvez natureza diferente das moléculas do metabólito tóxico, bem como quantidades diferentes de cada uma delas.

4.1.3 Tempo de incubação de *Paecilomyces lilacinus*

Os fungos podem ter uma fase ideal de produção de metabólitos secundários (Yarbrough et al., 1993). Para isto foi estudado o tempo de cultivo do fungo *Paecilomyces lilacinus* e seu efeito na toxicidade do filtrado produzido em ovos e J2 de *Meloidogyne incognita*. Com 6 dias de cultivo houve redução de 95% na motilidade de J2, chegando a 98% aos 9 dias (Figura 3A). Cinquenta por cento de mortalidade de J2 foram observados em filtrados de culturas com 6 dias (Figura 3B). Nesse período a produção micelial ainda era baixa (Figura 3D). O *Paecilomyces lilacinus* continuou aumentando a produção do metabólito tóxico até os 13 dias, quando o bioteste apresentou 100% de mortalidade. A partir desse período, o bioteste não acusou mais a quantidade produzida. Provavelmente a produção do metabólito tóxico continuou a acumular devido ao aumento do peso do micélio (Figura 3D).

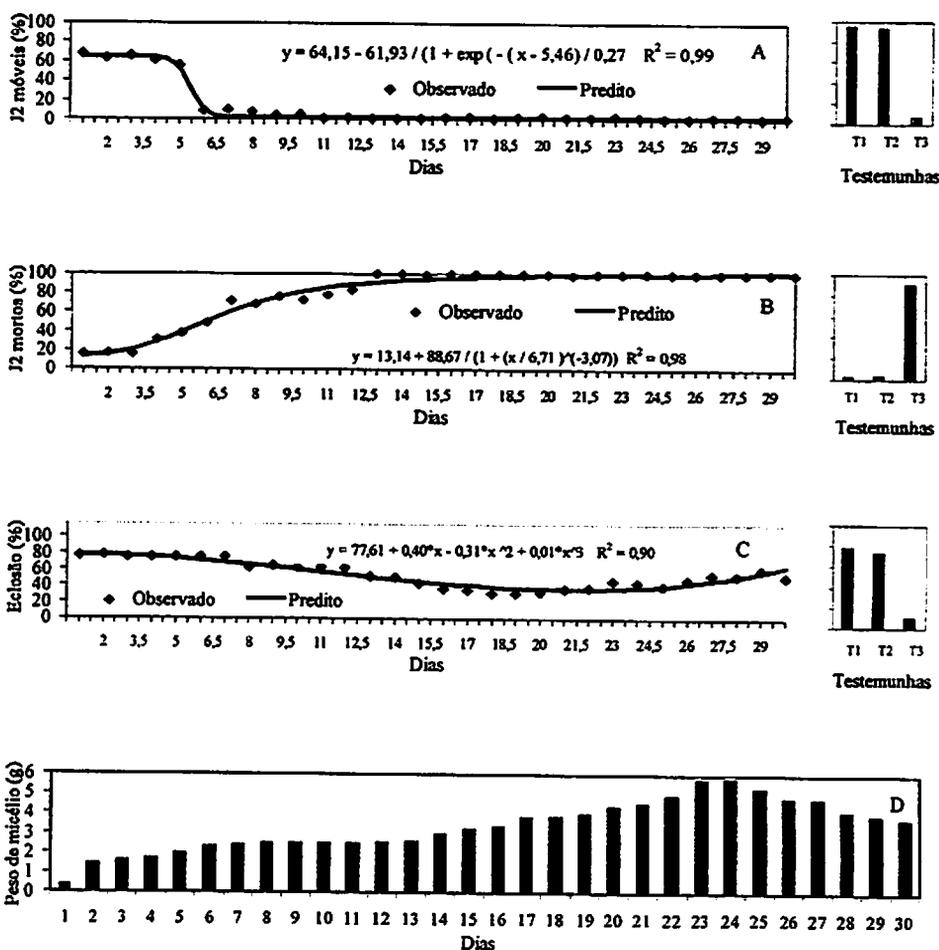


FIGURA 3 – Efeito de filtrados obtidos de culturas de *Paecilomyces lilacinus* cultivado por até 30 dias em meio Czapek, na motilidade (A), mortalidade (B) e na eclosão (C) de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*. Peso de micélio fúngico no período (D). Testemunhas: 1) incubação dos J2 em água (T1); 2) em meio Czapek (T2); 3) no nematicida Aldicarbe (T3).

Na eclosão, os efeitos foram mais tardios. Maior redução na eclosão ocorreu em filtrados de culturas com 20 dias de cultivo (Figura 3C), coincidindo

com a maior produção de micélio (Figura 3D). Esse resultado sugere uma maior sensibilidade aos metabólitos fúngicos por parte dos nematóides na fase de J2 eclodidos do que na fase de multiplicação celular da formação do embrião. Outra possibilidade consiste na produção de diferentes metabólitos por parte do fungo, ou seja, a substância atuando sobre J2 eclodidos estaria sendo produzida mais cedo do que aquela que atuaria sobre os embriões dentro dos ovos. De qualquer forma, este resultado está de acordo com o trabalho realizado por Fitters, Belder e Belder (1993) que estudaram o efeito de filtrados desse mesmo fungo após o 15º dia de cultivo na embriogênese de ovos de *Meloidogyne hapla*. Naqueles ovos tratados com os filtrados, o desenvolvimento do embrião parou após 2-4 dias e ocorreram 88% de mortes embrionares.

Também é interessante observar que após 23 dias de cultivo, a taxa de eclosão começa a subir, indicando que a substância ativa está sendo degradada.

4.1.4 Efeito da diluição de filtrados fúngicos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)

As diluições dos filtrados, obtidos após 15 dias de cultivo em Czapek, tiveram efeitos diferenciados na mortalidade e na eclosão de J2 (Figura 4B e C). Em relação à mortalidade de J2, pode-se observar que para o filtrado de *Paecilomyces lilacinus* só há redução abaixo de 90% na diluição 1:3 (filtrado:água), enquanto para filtrados de *Fusarium moniliforme* mortalidade acima desse valor ocorre apenas no filtrado com diluição 1:0 (filtrado:água). Já com *Cunninghamella elegans*, nem mesmo na diluição 1:0 (filtrado:água) se observa mortalidade superior a 90%.

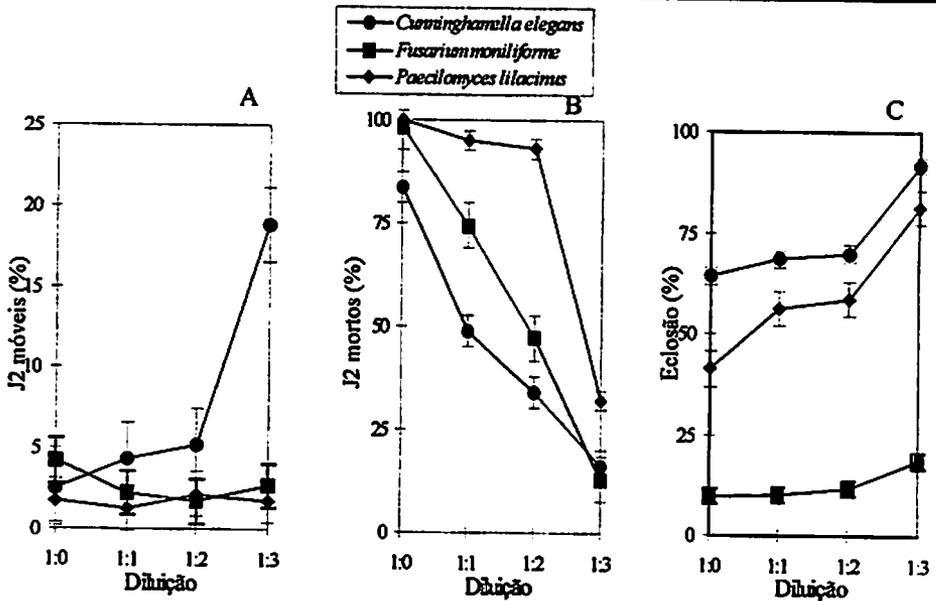


FIGURA 4 – Efeito da diluição de filtrados de culturas de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* e de *Paecilomyces lilacinus* na motilidade (A), mortalidade (B) e eclusão (C) de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*. Barras verticais indicam erros padrões (n = 6).

Aparentemente, dentre esses três fungos *Paecilomyces lilacinus* é aquele que produz metabólitos tóxicos em maior quantidade ou/e mais ativos contra J2 de *Meloidogyne incognita*. Trabalhos desenvolvidos por Cayrol, Dijan e Pijarowski (1989) demonstraram que a diluição até 90% do volume inicial de filtrados desse mesmo fungo, reduziu drasticamente o efeito na motilidade, e quando os filtrados foram concentrados, houveram aumentos na eficácia da inativação, contrastando com os resultados aqui obtidos.

Quanto à motilidade, as diluições dos filtrados não proporcionaram tantas alterações nos valores quanto no caso da mortalidade. A única grande

variação ocorreu com *Paecilomyces lilacinus*, entre as diluições 1:2 e 1:3, que apresentaram 5% e 8%, respectivamente, de J2 móveis.

Para *Paecilomyces lilacinus* a redução em decorrência da diluição do filtrado não foi tão expressiva quanto a da mortalidade. Com *Cunninghamella elegans* observou-se um comportamento análogo, sendo que com valores para a eclosão sempre superiores aos de *Paecilomyces lilacinus*. Já com *Fusarium moniliforme*, a percentagem de J2 eclodidos foi sempre bem mais baixa do que as observadas para os outros fungos, não apresentando praticamente nenhuma variação entre as diluições (Figura 4C).

Especificamente no caso de *Fusarium moniliforme* cuja diluição do filtrado teve influência sobre a mortalidade de J2 maior do que sobre a eclosão, pode-se sugerir que os ovos são mais sensíveis aos metabólitos tóxicos que J2, ou então, que a produção de tais substâncias é feita de forma diferenciada. Ou seja, neste caso aquela responsável pela diminuição da taxa de eclosão seria produzida em maior quantidade que a atuante sobre J2.

4.1.5 Extratos obtidos a partir de micélios fúngicos pela extração com metanol

O micélio fúngico parece conter menor quantidade do metabólito tóxico em alguns fungos e maior em outros (Tabela 9). A mortalidade de J2 em extratos obtidos a partir dos micélios fúngicos estudados foi menor ($P \leq 0,05$) do que aquela em Aldicarbe e, excetuando-se *Monacrosporium doedyoides*, menor ou igual a obtida com os filtrados fúngicos correspondentes (Tabela 8). Com esse fungo foi expressivo o aumento da mortalidade proporcionada pelo emprego do extrato, indicando que foram obtidos componentes da parede celular do fungo, com efeito tóxico a J2 de *Meloidogyne incognita*.

Também ocorreram variações consideráveis na eclosão de J2. Resultados expressivos foram obtidos com extratos resultantes de micélio de *Fusarium moniliforme* e *Arthrobotrys oligospora* que apresentaram valores superiores aos observados para os filtrados correspondentes (Tabelas 8 e 9).

Tais resultados deixam evidente que as substâncias tóxicas aos nematóides não são totalmente excretadas para o meio de cultura, sendo que em vários casos a quantidade de tais compostos retidos no fungo pode ser maior que a liberada para o meio.

TABELA 9 – Efeito de extratos obtidos de micélio fúngico, através da extração com metanol, e do nematicida Aldicarbe, na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Tratamento	J2 imóveis (%)	J2 mortos (%)	Eclosão (%)
<u>Ascomycetes mitospóricos (Hyphomycetes)</u>			
<i>Arthrobotrys conoides</i>	5 f	6 f	85 f
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	32 d	60 c	42 b
<i>Arthrobotrys superba</i>	2 g	5 f	79 e
<i>Fusarium moniliforme</i> isolado 2	43 c	50 d	42 b
<i>Fusarium solani</i>	7 e	16 e	80 e
<i>Monacrosporium doedyoides</i>	79 b	70 b	62 d
<i>Paecilomyces lilacinus</i> isolado 01	34 d	40 d	46 c
Testemunha 1 (água)	1 g	3 f	90 g
Testemunha 2 (Aldicarbe)	93 a	88 a	15 a

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

4.1.6 Patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiros (*Lycopersicon esculentum*) cultivados em casa-de-vegetação

O número de ovos nos sistemas radiculares das plantas não foi alterado com as dosagens, mas com a origem do filtrado (Figura 5A). Redução no número de ovos em tomateiros inoculados com *Meloidogyne incognita* ocorreu com aplicação de filtrados de *Fusarium moniliforme* e *Paecilomyces lilacinus*, sendo que este último apresentou eficácia similar àquela do nematicida Aldicarbe ($P \leq 0,05$) (Figura 5A). Os resultados estão de acordo com aqueles obtidos por (Jatala, Kaeltenbach e Bocangel, 1980), que obtiveram redução do número de ovos produzidos por *Meloidogyne incognita* em batata (*Solanum tuberosum*) quando utilizaram filtrados de *Paecilomyces lilacinus*. Redução do índice de galhas em tomate provocada por *Meloidogyne javanica* foi obtida por Galper et al. (1991), quando utilizaram filtrados de *Cunninghamella elegans*. Já Hallman e Sikora (1996) obtiveram redução do número de J2 de *Meloidogyne incognita* que penetraram em plântulas de alface (*Lactuca sativa*), quando utilizaram filtrados de *Fusarium oxysporum*.

Contudo, as doses concentradas (N2) dos filtrados de *Fusarium moniliforme* e *Paecilomyces lilacinus* reduziram significativamente o peso da parte aérea das plantas, demonstrando efeito tóxico ao tomateiro (Figura 5B), desta forma, recomenda-se a dosagem menos concentrada (N1) desses filtrados no controle de *Meloidogyne incognita*. Esses efeitos tóxicos foram comprovados visualmente. Observaram-se arroxamento das folhas, o que era acompanhado de redução do tamanho das plantas. Tomateiros que receberam filtrados de *Fusarium moniliforme* tiveram redução do tamanho de 10%, quando o filtrado recebido era o concentrado até 60% do volume inicial e de até 45%, quando era concentrado até 20%. Filtrados de *Paecilomyces lilacinus* concentrados até 20% reduziram em 20% o tamanho das plantas. Já Siddiqui e Mahmood (1995) obtiveram redução da produção de ovos por *Meloidogyne incognita* em ervilha mas com aumento do peso seco das plantas, quando utilizaram filtrados de *Aspergillus niger* e de *Penicillium coryophilum*.

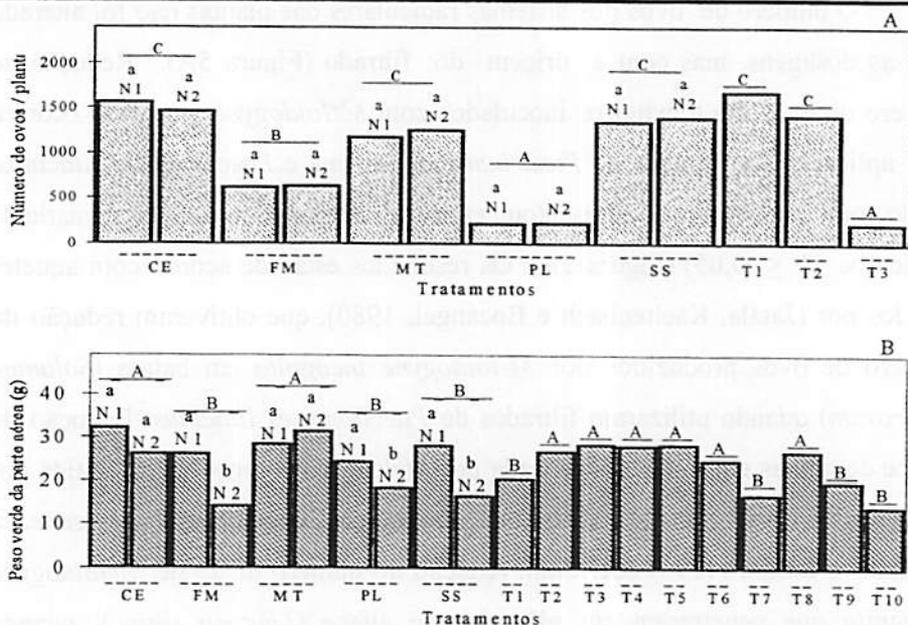


FIGURA 5 – (A) - Número de ovos de *Meloidogyne incognita* (MI) em tomateiros, com aplicação de filtrados de *Cunninghamella elegans* (CE), *Fusarium moniliforme* (FM), *Mortierella* sp. (MT), *Paecilomyces lilacinus* (PL) e *Sclerotinia sclerotiorum* (SS), concentrados em até 60% do volume inicial (N1) e até 20% (N2). (B) - Peso fresco da parte aérea dos tomateiros infestados por MI e aplicados com os filtrados fúngicos descritos em (A). T = testemunhas: T1 - inoculada apenas com MI; T2 - inoculada com MI e aplicado Czapek sem crescimento fúngico e concentrado até 20%; T3 - inoculada com MI, porém com aplicação do Aldicarbe; T4 - sem inoculação de MI, porém com aplicação de Czapek concentrado até 20%; T5 - sem inoculação de MI e sem aplicação de filtrado fúngico; T6 - sem inoculação de MI, porém com aplicação de filtrado de CE; T7 - idem com aplicação de filtrado de FM; T8 - idem com aplicação de filtrado de MT; T9 - idem com aplicação de filtrado de PL; T10 - idem com aplicação de filtrado de SS. Médias seguidas de mesma letra maiúscula (comparação entre tratamentos) ou minúscula (comparação entre doses), não diferem entre si pelos testes de Scott e Knott (1974), e de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989), respectivamente a 5% de probabilidade.

Filtrados de *Sclerotinia sclerotiorum* concentrados (N2) também reduziram significativamente o peso da parte aérea chegando a 32%, entretanto não ocorreu redução do número de ovos (Figura 5A B), demonstrando que a substância tóxica ao tomateiro não é a mesma que causa redução na reprodutividade de *Meloidogyne incognita*.

Nas testemunhas em que se utilizaram filtrados de *Fusarium moniliforme* (T7), *Paecilomyces lilacinus* (T9) e *Sclerotinia sclerotiorum* (T10) também ocorreram reduções ($P \leq 0,05$) no peso da parte aérea, confirmando que no filtrado concentrado a planta é sensível a compostos presentes nesses filtrados (Figura 5B). Hallman e Sikora (1996) obtiveram resultados semelhantes quando utilizaram filtrados concentrados de *Fusarium oxysporum*, no controle de *Meloidogyne incognita*, em alface. Houve redução do crescimento e as raízes apresentaram coloração necrótica.

4.2 Efeito de extratos de plantas e de esterco animais na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* e na patogenicidade desse nematóide em tomateiros

4.2.1 Eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)

Desenvolveu-se inicialmente um ensaio para a escolha do melhor solvente a ser empregado na extração de metabólitos tóxicos a J2 de *Meloidogyne incognita*, a partir de plantas (Tabela 10).

Nos extratos obtidos com metanol e água houveram sempre maiores mortalidades e menores motilidades de J2 do que aquelas obtidas com acetato de etila ou hexano (Tabela 10), sendo que, em geral, os extratos de

Coffea arabica apresentaram melhores resultados do que os de *Brachiaria decumbens* ($P \leq 0,05$). Isso indica que *Coffea arabica* possui metabólitos mais tóxicos ou em maiores quantidades que *Brachiaria decumbens* (Tabela 10).

TABELA 10 – Efeito de extratos obtidos de plantas, através da extração com acetato de etila (AC), hexano (H), metanol (M) e água (A) e do nematicida Aldicarbe na motilidade, eclosão e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Tratamento	Solvente	J2 imóveis (%)	J2 mortos (%)	Eclosão (%)
<u>Poaceae</u>	AC	18 f	13 e	64 e
<i>Brachiaria decumbens</i>	H	16 f	17 e	90 h
	M	97 a	60 d	18 b
	A	96 b	78 c	72 f
<u>Rubiaceae</u>	AC	9 g	14 e	91 i
<i>Coffea arabica</i>	H	10 g	15 e	46 d
	M	94 c	100 a	9 a
	A	87 e	92 b	18 b
Testemunha 1 (água)	-	2 h	4 f	90 h
Testemunha 2 (Tween 1%)	-	3 h	6 f	87 g
Testemunha 3 (Aldicarbe)	-	92 d	90 b	21 c

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

Quanto à eclosão de J2, as extrações com metanol apresentaram melhores resultados do que as extrações com água (Tabela 10). Nogueira et al. (1994) também apresentaram pequena redução no número de J2 eclodidos, no entanto, com etanólicos, a redução da mortalidade foi significativa. Com base nos resultados acima, optou-se por trabalhar apenas com metanol e água nas extrações (Tabela 11). No teste de motilidade todos os extratos apresentaram resultados superiores ao da testemunha com água, sendo *Bacharis trimera*,

TABELA 11 – Efeito de extratos de raízes (R) de *Brachiaria decumbens*, de folhas e de vagens secas (V) de *Leucaena leucocephala* e de folhas de outras plantas e do nematicida Aldicarbe, na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Tratamento	Solvente	J2 imóveis (%)	J2 mortos (%)	Eclosão (%)
Caricaceae				
<i>Carica papaya</i>	M	97 a	48 e	11 c
	A	97 a	25 h	6 b
Chenopodiaceae				
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	M	96 a	42 f	3 a
	A	35 f	7 k	17 d
Compositae				
<i>Bacharis trimera</i>	M	96 a	21 h	70 j
	A	97 a	6 k	18 e
<i>Tagetes patula</i>	M	97 a	14 j	15 d
	A	98 a	46 e	68 j
Euphorbiaceae				
<i>Ricinus communis</i>	M	97 a	84 b	5 b
	A	96 a	8 k	42 g
Leguminosae				
<i>Cajanus cajan</i>	A	40 e	32 g	73 k
<i>Leucaena leucocephala</i>	A	30 g	38 f	56 i
<i>Leucaena leucocephala</i> (V)	A	54 d	58 d	26 f
Poaceae				
<i>Brachiaria decumbens</i> (R)	M	10 h	11 j	91 m
	A	98 a	13 j	90 m
Rutaceae				
<i>Ruta graveolens</i>	M	96 a	74 c	11 c
	A	96 a	36 g	51 h
Solanaceae				
<i>Nicotiana tabacum</i>	M	85 c	18 i	19 e
	A	27 g	21 h	81 l
Umbelliferae				
<i>Foeniculum vulgare</i>	M	96 a	15 i	21 e
	A	96 a	34 g	79 l
Testemunha 1 (água)	-	4 i	4 k	92 m
Testemunha 2 (Aldicarbe)	-	93 b	93 a	13 d

Médias Seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

Carica papaya, *Foeniculum vulgare*, *Ricinus communis*, *Ruta graveolens*, e *Tagetes patula* melhores que o próprio Aldicarbe. Já com *Chenopodium ambrosioides*, apenas o extrato metanólico se mostrou mais eficiente que o Aldicarbe (Tabela 11).

Quanto ao teste de mortalidade, excetuando-se os extratos aquosos de *Bacharis trimera*, *Chenopodium ambrosioides* e *Ricinus communis*, todos apresentaram comportamento intermediário entre a testemunha com água e com Aldicarbe, sendo que os melhores resultados foram obtidos com *Ricinus communis* (84% de J2 mortos) e *Ruta graveolens* (74% de J2 mortos). Não é observada aqui uma boa correlação entre os testes de motilidade e mortalidade, pois vários extratos apresentando ótimos resultados no primeiro não são tão bons no segundo, e vice-versa (Tabela 11).

Em relação ao teste de eclosão, apenas *Brachiaria decumbens* apresentou resultados estatisticamente idênticos à testemunha com água. Os extratos alcoólicos de *Chenopodium ambrosioides*, *Ricinus communis* e *Ruta graveolens* foram melhores do que a testemunha com Aldicarbe, enquanto todos os restantes apresentaram posições intermediários. Também não foi possível obter uma correlação entre os testes de eclosão, motilidade e mortalidade (Tabela 11).

Em geral, observam-se diferenças significativas entre os extratos aquosos e metanólicos, o que parece algo bastante razoável se considerarmos que as substâncias ativas devem possuir solubilidades diferentes em água e metanol. Bano, Anver e Tiyagi (1986) observaram também que extratos tóxicos a *Meloidogyne incognita*, obtidos de plantas, apresentam efeitos significativos na eclosão (Tabela 11).

Os extratos obtidos de esterco animal causaram mortalidade e redução na eclosão superiores às aquelas em água (Tabela 12). Os esterco de aves e de suínos propiciaram a obtenção de extratos que causaram mortalidade e redução

Os extratos obtidos de esterco animais causaram mortalidade e redução na eclosão superiores àquelas em água (Tabela 12). Os esterco de aves e de suínos propiciaram a obtenção de extratos que causaram mortalidade e redução na eclosão superiores a 50% ou mais daquela em Aldicarbe (Tabela 12). Portanto, os extratos de todos os esterco testados contêm metabólitos tóxicos a J2 com maior quantidade naqueles procedentes de aves e suínos ($P \leq 0,05$).

TABELA 12 – Efeito de extratos aquosos obtidos a partir esterco de aves, bovinos e suínos e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e na eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Tratamento	J2 imóveis (%)	J2 mortos (%)	Eclosão (%)
Esterco avícola	97 a	67 b	20 a
Esterco bovino	23 c	28 d	55 c
Esterco suíno	95 ab	61 c	19 a
Testemunha 1 (água)	4 d	6 e	80 d
Testemunha 2 (Aldicarbe)	93 b	92 a	24 b

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

4.2.2 Tempo de exposição de ovos e juvenis do segundo estágio (J2)

Os efeitos tóxicos dos metabólitos produzidos por *Coffea arabica* e *Bacharis trimera* e aqueles do Aldicarbe são manifestados rapidamente na motilidade de J2 de *Meloidogyne incognita* (Figura 6). Extratos metanólicos obtidos de casca do grão de *Coffea arabica*, imobilizaram 91% de J2, 1 hora após o estabelecimento do ensaio. Já aqueles obtidos de folhas de *Bacharis* de raízes de *Brachiaria decumbens* só imobilizaram 8% de juvenis 15 horas após.

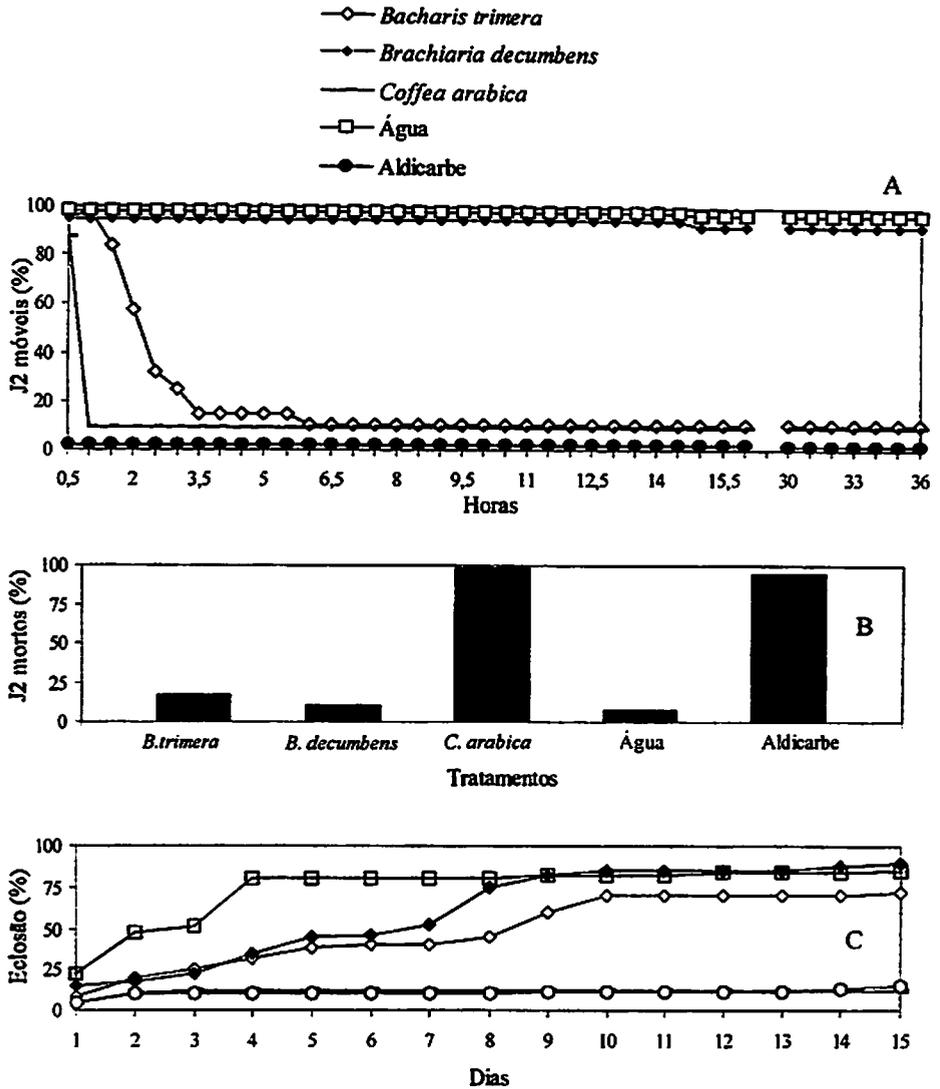


FIGURA 6 – Efeito de extratos vegetais na motilidade (A), mortalidade (B) e na eclusão (C) de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em períodos curtos de tempo.

Sob o efeito do nematicida Aldicarbe, 98% dos J2 tiveram a motilidade cessada 30 minutos após o início do experimento, permanecendo imóveis em água até 36 horas depois (Figura 6). Após o referido tempo não se observaram aumentos satisfatórios de inativação de J2 de *Meloidogyne incognita*. Sharma (1996) obteve resultados satisfatórios de inativação de J2 de *Meloidogyne incognita*, sob efeito de 6 extratos aquosos, 1 hora após o estabelecimento do ensaio e os denominou de efeito atordoante.

Logo após a avaliação de motilidade, os J2 foram transferidos para água de torneira e, passadas 12 horas, foi avaliada a percentagem de J2 mortos. Muitos J2 recobriram a motilidade. Obtiveram-se 99%, 18%, 11% e 95% de mortalidade de J2, sob efeito de *Coffea arabica*, *Bacharis trimera*, *Brachiaria decumbens* e de Aldicarbe, respectivamente. Isso indica que na casca de café existem metabólitos tóxicos a J2 de *Meloidogyne incognita* em alta quantidade.

Quanto à influência dos extratos sobre os ovos, observa-se que esta ocorreu em tempos diferentes de acordo com o extrato (Figura 6). Com extratos de cascas de grãos de *Coffea arabica* se obteve redução da eclosão a partir dos dois dias do estabelecimento do ensaio, sendo os valores mantidos baixos até o final do ensaio, a semelhança do ocorrido com Aldicarbe (Figura 6).

Extratos de *Bacharis trimera* e *Brachiaria decumbens* propiciaram eclosões de J2 progressivamente, atingindo a estabilidade aos 10 dias em ambos os casos. O nível de eclosão foi sempre mais baixo, até os 8 dias, em extratos de *Brachiaria decumbens* do que na água (Figura 6). Desta forma, esses metabólitos tóxicos têm efeito relevante no retardamento do desenvolvimento embrionário com efeito mais prolongado ainda, em ovos colocados em extratos de *Bacharis trimera*, contrastando com aqueles anteriormente descritos relativos a *Coffea arabica* (Figura 6).

4.2.3 Efeito da diluição de extratos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2)

As diluições dos extratos obtidos a partir dos extratos metanólicos de *Ricinus communis*, *Ruta graveolens*, e de *Coffea arabica* tiveram efeitos diferenciados na mortalidade, motilidade e na eclosão de J2 de *Meloidogyne incognita* (Figura 7).

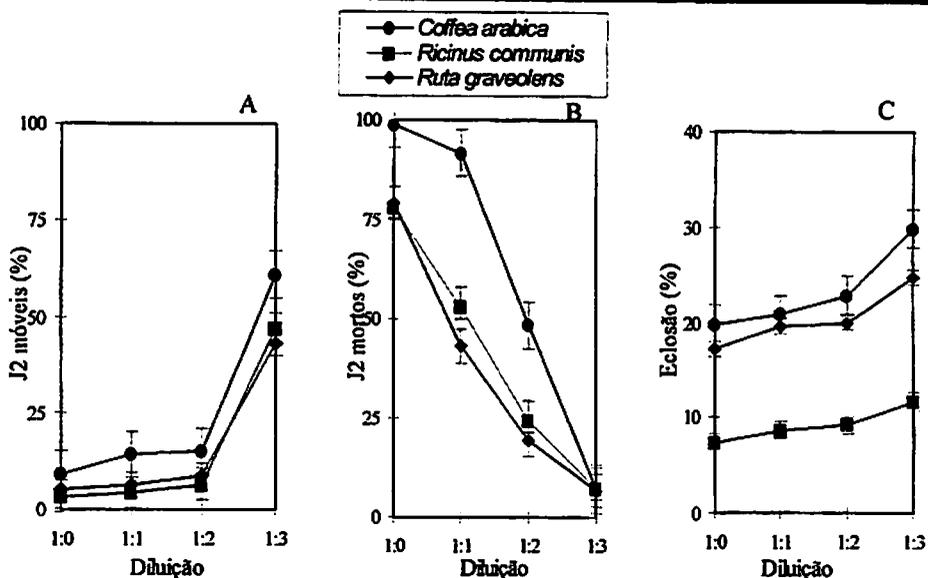


FIGURA 7 – Efeito de extratos metanólicos obtidos das folhas de *Ricinus communis* e de *Ruta graveolens* e da casca do grão de *Coffea arabica* em diferentes diluições, na motilidade (A), mortalidade (B) e eclosão (C) de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*. Barras verticais indicam erros padrões (n = 6).

Com *Coffea arabica* os índices de mortalidade de J2 se mantiveram elevados mesmo com diluição de 1:1 (extrato:Tween 1%), enquanto com diluição de 1:2 (extrato:Tween 1%) o índice caiu para algo em torno de 50% do valor inicial. Já os obtidos com extratos de *Ricinus communis* e *Ruta graveolens* foram acentuadamente reduzidos com as diluições.

A motilidade foi sempre baixa nas diluições 1:1 e 1:2 de todas os extratos das plantas estudadas, demonstrando que as concentrações necessárias para causar a morte são sempre mais elevadas do que aquelas que podem causar a imobilização (Figura 7A e B). Nandal e Bathi (1983) avaliando o efeito de 30 extratos vegetais em relação à mortalidade de *Meloidogyne javanica* e em diferentes diluições observaram que somente extratos de *Tagetes erecta* apresentaram efeitos significativos na mortalidade até a diluição de 90% do extrato original.

A eclosão foi inferior a 30% para todas as diluições dos extratos estudados nesse experimento, indicando maior sensibilidade do embrião e dos J2 dentro dos ovos aos metabólitos extraídos das plantas pelo metanol (Figura 7C). Resultados semelhantes foram obtidos por Bano, Anver e Tiyagi (1986).

4.2.4 Patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne incognita* em tomateiros (*Lycopersicon esculentum*) cultivados em casa-de-vegetação

O número de ovos nos sistemas radiculares de tomateiros não foi alterado com as dosagens mas sim com o tipo de extrato orgânico empregado (Figura 8A). Redução ($P \leq 0,05$) no número de ovos em tomateiros inoculados com *Meloidogyne incognita* ocorreu em aplicações de extratos metanólicos de *Brachiaria decumbens*, *Coffea arabica* e aquosos de esterco de aves e de

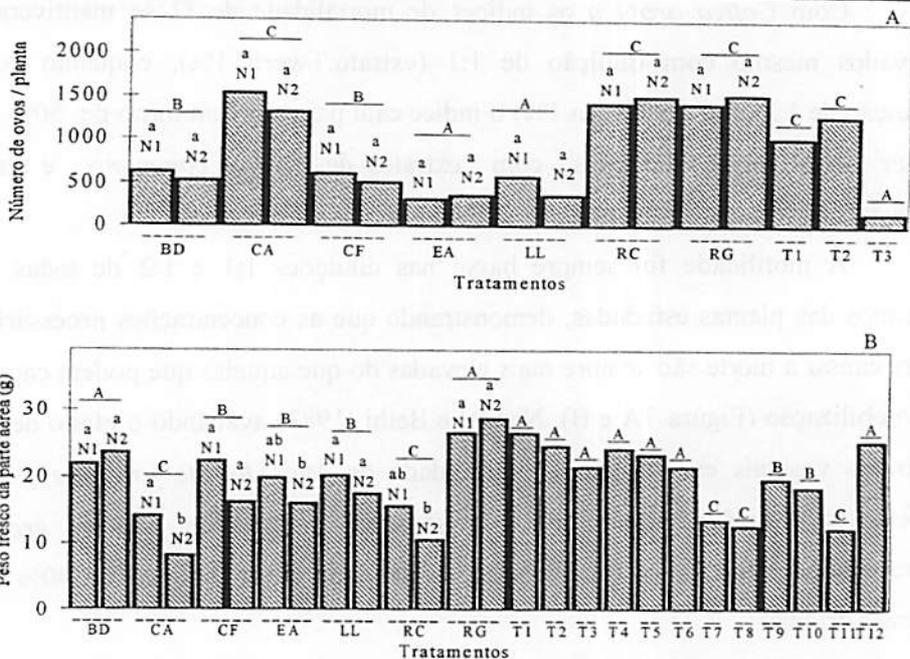


FIGURA 8 – (A) - Número de ovos de *Meloidogyne incognita* (MI) em tomateiros, com aplicação de extratos obtidos de *Brachiaria decumbens* (BD), *Chenopodium ambrosioides* (CA), *Coffea arabica* (CF), esterco de aves (EA), *Leucaena leucocephala* (LL), *Ricinus communis* (RC) e *Ruta graveolens* (RG), concentrados até 60% do volume inicial (N1) e até 80% (N2). (B) - Peso fresco dos tomateiros infestados por MI e aplicados os extratos descritos em (A). T = testemunhas: T1 - inoculada com MI; T2 - inoculada com MI e aplicado Tween 1%; T3 - inoculada com MI, porém com aplicação do Aldicarbe; T4 - sem inoculação de MI, porém com aplicação de Tween 1%; T5 - sem inoculação de MI e sem aplicação de extrato; T6 - sem inoculação de MI, porém com aplicação de extrato obtido de BD; T7 - idem com aplicação de CA; T8 - idem com aplicação de CF; T9 - idem com aplicação de EA; T10 - idem com aplicação de LL; T11 - idem com aplicação de RC; T12 - idem com aplicação de RG; Médias seguidas de mesma letra maiúscula (comparação entre tratamentos) ou minúscula (comparação entre doses), não diferem entre si pelos testes de Scott e Knott (1974), e de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989), respectivamente a 5% de probabilidade.

Leucaena leucocephala comparado com a aplicação da solução do surfactante Tween 1% (v/v) e água ($P \leq 0,05$) (testemunha 2) (Figura 8A). Alguns trabalhos já evidenciaram redução na reprodutividade de nematóides com a utilização de produtos obtidos de plantas, como o látex de *Calotropis procera* e *Euphorbia caducifolia* (Siddiqui e Alam, 1988) e extratos de *Melia azedarach* e *Calotropis procera* (Akhtar et al., 1992), que são eficazes na redução populacional de fitonematóides, quando empregados para o tratamento de sementes ou imersão de raízes. Óleos essenciais de algumas plantas aromáticas têm demonstrado forte ação nematicida (Leela et al., 1992). O eugenol, um dos constituintes do óleo essencial de *Ocimum sanctum*, apresentou ação nematicida sistêmica (Bala e Sukul, 1987).

Dos extratos testados, apenas aquele obtido de *Coffea arabica* causou redução significativa no peso verde da parte aérea comparado com aquele de suas respectivas testemunhas (Figura 8B) demonstrando que a dose mais concentrada do extrato de *Coffea arabica* é tóxica a tomateiro, já que na testemunha aplicou-se o extrato concentrado (Figura 8B). O emprego de dose não concentrada pode evitar este efeito tóxico. Neste caso, talvez a mesma substância que reduz o número de ovos (Figura 8A) causa toxidez ao tomateiro. Em trabalhos já realizados, extratos de *Medicago media*, *Taraxacum officinale*, *Sorghum alnum*, *Melilotus officinalis*, *Iva axillaris*, *Agropyron repeus*, *Oryza sativa*, *Ambrosia trifida* e *Peltandra virginica* inibiram a germinação e o crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa*), de tomate (*Lycopersicon esculentum*) e de pepino (*Cucumis sativus*) (Lawrence e Kilcher, 1961; Patrick, 1971; Chou e Lin, 1976). Mojunder e Mishra (1992) recomendam imersão de sementes no extrato vegetal por período mais curto para evitar toxicidade, confirmando assim que extratos apresentam substâncias com efeito alelopático.

Extratos de *Chenopodium ambrosioides* e de *Ricinus communis* causaram as maiores reduções no peso verde da parte aérea demonstrando efeito

tóxico a tomateiros (Figura 8B), porém, não causaram redução no número de ovos de *Meloidogyne incognita* (Figura 8A), demonstrando, neste caso, que a substância tóxica ao tomateiro pode não ser a mesma que causa a redução do número de ovos (Figura 8A). Tomateiros que receberam extratos de *Chenopodium ambrosioides* tiveram redução de altura de 10%, quando o extrato era concentrado até 60% do volume inicial e de 45%, quando concentrado em 20%, comparado com a testemunha 1.

Entre as testemunhas (T1 a T12) observou-se o efeito tóxico em tomateiro intermediário quando se aplicaram extratos orgânicos de esterco avícola e da planta *Leucaena leucocephala*.

5 CONCLUSÕES

- 1) *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum* e *Paecilomyces lilacinus* produzem metabólitos tóxicos, com efeitos significativos na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*, comparáveis ao nematicida Aldicarbe.
- 2) A dose de filtrado de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* e *Paecilomyces lilacinus* para causar imobilização é sempre menor que aquela que causa a morte.
- 3) *Aspergillus flavus*, *Cylindrocarpon magnusianum*, *Fusarium solani* e *Mortierella* sp. produzem metabólitos tóxicos, com efeitos significativos na eclosão de J2 de *Meloidogyne incognita*.
- 4) A produção de metabólitos tóxicos a fitonematóides não depende diretamente da quantidade de micélio que o fungo forma em meio líquido.
- 5) Toxicidade de *Paecilomyces lilacinus* a J2 inicia-se aos 4 dias de cultivo e causa 100% de mortalidade aos 13 dias.
- 6) Metabólitos de *Fusarium moniliforme* e *Paecilomyces lilacinus* reduzem a produção de ovos de *Meloidogyne incognita* em tomateiros.
- 7) Extratos obtidos de *Carica papaya*, *Coffea arabica*, *Leucaena leucocephala*, *Ricinus communis*, *Ruta graveolens* e de esterco de aves e de suínos causam mortalidade e redução na eclosão de J2 de *Meloidogyne incognita*.

8) Metanol e água são solventes mais eficientes na obtenção de extratos de *Brachiaria decumbens* e de *Coffea arabica* com efeito tóxico a J2 de *Meloidogyne incognita* do que acetato de etila e hexano.

9) A concentração de extratos de *Coffea arabica*, *Ricinus communis* e de *Ruta graveolens* para causar imobilização é menor do que aquela para causar a morte de J2 de *Meloidogyne incognita*.

10) *Brachiaria decumbens*, *Coffea arabica*, esterco de aves e *Leucaena leucocephala* reduzem o número de ovos de *Meloidogyne incognita* produzidos em tomateiros.

11) As doses mais diluídas de filtrados fúngicos e de extratos vegetais reduzem eficientemente a reprodutividade de *Meloidogyne incognita* sem causar efeito tóxico ao tomateiro.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As substâncias oriundas de fungos, plantas e de esterco animais que afetam a reprodução de *Meloidogyne incognita* em plantas podem ou não ser a mesma que causa fitotoxidez; necessita, por conseguinte, de purificação dos seus princípios ativos, os quais podem se tornar nematicidas de uso na agricultura com vantagens por serem produtos biológicos, causando menos impacto ao meio ambiente.

Como em nosso país são escassos nessa área, há uma grande demanda por trabalhos que tenham como objetivos identificar as substâncias ativas contra fitonematóides presentes nas plantas e fungos brasileiros.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, R.; TARIQ, M.; JAVED, N.; INAM-UL-HAQ, M. Effect of extract of various plants on egg hatching and larval survival of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Pakistan Journal of Phytopathology**, Karachi, v.3, n.1, p.38-42, 1991.
- AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Control of plant-parasitic nematodes with 'nimim' and some plant oils by bare-dip treatment. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.21, n.1, p.89-92, 1993.
- AKHTAR, M.; WANI, A. H.; ALAM, M. M. Control of root-knot nematode with bare root dip in leaf extracts of persian lilac and *Calotropis procera*. **Current Nematology**, Allahabad, v.3, n.1, p.41-44, 1992.
- ALAM, M. M. ; KHAN, M. W.; SAXENA, S. K. Inhibitory effect of culture filtrates of some rhizosphere fungi of okra on the mortality and larval hatching of certain plant parasitic nematodes. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.3, p.94-98, 1973.
- ANVER, S.; ALAM, M. M. Effect of látex seed dressing on interacting root-knot and reniform nematodes. **Afro-Asian Journal of Nematology**, New Delhi, v.2, n.1, p.17-20, 1992.
- ANWAR, A.; SAXENA, S. K. Effect of culture filtrate of *Aspergillus niger* Van Tiegh on growth of tomato plants and development of *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira, 1940. **Current Nematology**, Allahabad, v.4, n.2, p.207-210, 1993.
- ARYA, R.; SAXENA, S. K.; ARYA, R. Effect of culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* grown on different amino acids on hatching of *Meloidogyne incognita*. **Indian Phytopathology**, Aligarh, v.46, n.1-4, p.167-168, 1993.
- ASCHNER, M.; KOHN, S. The biology of *Harposporium anguillulae*. **Journal of General Microbiology**, London, v.19, p.182-189, 1958.

- AWAD, N. G. H.; EL TOONY, A. M. E.; TRADROUS, M. F. I., KHALIL, M. A. I. Efficacy of root exudates and extracts of tomato, garlic and onion on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *F. oxysporum* f. sp. *cepae* and *Meloidogyne incognita*. **Arabian Universities Journal of Agricultural Sciences**, Dhahran, v.5, n.1, p.105-120, 1997.
- AWAN, M. N.; JAVED, N.; AHMAD, R.; INAM-UL-HAQ. Effect of leaf extract of four plant species on larval mortality of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) and Citrus plant growth. **Pakistan Journal of Phytopathology**, Karachi, v.4, p.41-45, 1992.
- BABU, S. P. S.; SUKUL, N. C. Essential oils as nematicidal principles. **Environment and Ecology**, New Delhi, v.8, n.4, p.1118-1120, 1990.
- BADRA, T.; SALEH, M. A.; OTEIFA, B. A. Nematicidal activity and composition of some organic fertilizers and amendments. **Revue Nématologie**, Auburn, v.2, n.1, p.29-36, 1979.
- BALA, S. K., SUKUL, N. C. Systemic nematicidal effect of eugenol. **Nematropica**, Auburn, v.17, p.219-222, 1987.
- BALAN, J.; GERBER, N. N. Attraction and killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predaceous fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Nematologia**, v.18, p.163-173, 1972.
- BALANDRIN, M. F.; KLOCKE, J. A. Medicinal, aromatic and industrial materials from plants. In: BAJAHJ, Y. P. S. (ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry**. Berlin: Springer Verlag, v.4, p.3-36, 1988.
- BANO, M.; ANVER, S.; TIYAGI, S. A. Evaluation of nematicidal properties of some members of the family Compositae. **International Nematology, Network Newsletter**, v.3, n.10, p.15-25, 1986.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal, FUNEP, 1989. 247 p.
- BARRON, G. L. Isolation and maintenance of endoparasitic nematophagous Hyphomycetes. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, 47, p.1899-1902, 1969.
- BARRON, G. L. The nematode-destroying fungi. **Canadian Biology Publications**, Ottawa, 1977. 140 p.

- BARRON, G. L.; THORN, R. G. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. *Canadian Journal of Botany*, Ontario, v.65, p.774-778, 1987.
- B'CHIR, M. M.; HORRIQUE, N.; VERLODT, H. Mise au point d'une méthode de lutte intégrée, associant un agent biologique et une substance chimique, pour combattre les *Meloidogyne* sous-abris plastiques en Tunisie. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwtenschappen Rijksuniversiteit Gent*, Wageningen, v.48, p.421-432, 1982.
- BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defense mechanisms. *New Phytologist*, Philadelphia, v.127, n.4, p.617-633, 1994.
- BIRCH, A. N. E., ROBERTSON, W. M.; FELLOWS, L. Plant products to control plant parasitic nematodes. *Pesticide Science*, Philadelphia, v.39, p.141-145, 1993.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.6, p.553, 1981.
- CAMPOS, V. P. Implicação da sobrevivência dos nematóides em solo e raízes de plantas no controle dos fitopatógenos. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.16, n.172, p.15-16, 1992.
- CASTRO, A. G. *Defensivos agrícolas como um fator ecológico*. Jaguariúna, 1989. 20 p. (EMBRAPA - CNPDA. Documento, 6).
- CAYROL, J. C.; DIJAN, C.; PIJAROWSKI, L. Study of the nematicidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Revue Nématologie*, Auburn, v.12, p. 331-336, 1989.
- CAYROL, J. C.; FRANKOWSKI, J. P. Une méthode de lutte biologique contre les nematodes a galles des racines appartenant au genre *Meloidogyne*. *Revue Horticole*, Jussy, v.193, p.15-23, 1979.
- CHATTERJEE, A.; SUKUL, N. C.; LASKAR, S. Nematicidal principles from two species of Lamiaceae. *Journal of Nematology*, Raleigh, v.14, p.118-120, 1982.

- CHITWOOD, D. J. Naturally occurring nematicides. In: DUKE, S. O.; MENN, J. J.; PLIMER, J. R. (eds.). **Pest control with enhanced environmental safety**. Washington: American Chemical Society, Washington, p.300-315, 1993.
- CHOU, C. H.; LIN, H. J. Antointoxication mechanisms of *Oryza sativa*. Phytotoxic effects of decomposition rice residues in soil. **Journal of Chemical Ecology**, v.2, p.353-367, 1976.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agriculture Research Centre, 1972. 77p.
- CORREA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. **Cultivo de plantas medicinais, condimentais e aromáticas**. 2^a ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 151p.
- DACKMAN, C.; NORDBRING-HERTZ, B. Conidial traps - a new survival structure of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Mycological Research**, Cambridge, v.96, p.194-198, 1992.
- DAHYA, J. S.; SINGH, D. P. Inhibitory effects of *Aspergillus niger* culture filtrate on mortality and hatching of larvae of *Meloidogyne* spp. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.86, n.1, p.145-146, Jan, 1985.
- DIJKSTERHIUS, J. **Nematode-fungal interactions**. Groningen: University of Groningen, 1993. (Ph. D. thesis).
- DIJAN, C.; PIJAROWSKI, L.; PONCHET, M.; ARPIN, N.; BONVIN, F. J. Acetic acid: a selective nematicidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson and *Trichoderma longibrachiatum* Rifai. **Nematologica**, Leiden, v.37, n.1, p.101-112, July/Dec. 1991.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**. London: Academic Press, v.1, 1993. 860 p.
- DOWE, A. **Rauberische Pilze**. Wittenberg: Ziehmsen Verlag, 1987.
- DUDDINGTON, C. L. **The friendly fungi**. London: Faber and Faber, 1960.
- EL NAGAR, H. I.; HENDY, H. H.; OSMAN, A. A.; FARAHAT, A. A. The combined effect and sequence of application of different concentrations of

- some biocides on the reproduction of the reniform nematode. **Bulletin of Faculty of Agriculture, Cairo**, v.45, n.3, p.739-751, 1994.
- FASSUOLITIS, G.; SKUCAS, G. P. The effect of pyrrolizidine alkaloid ester and plants containing pyrrolizidine on *Meloidogyne incognita acrita*. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.1, p.287-2889, 1969.
- FERRAZ, S.; VALLE, L. A. **Controle de fitonematóides por plantas antagônicas**. Viçosa-MG: UFV, 1997. 73p. (Cadernos Didáticos).
- FITTERS P. F. L.; BELDER, E.; BELDER, E. D. DEN. A time lapse technique to study the effect of fungal products on embryogenesis of nematode eggs. **Medelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Wageningen**, v.58, n.2 B, p.751-756, 1993.
- FREIRE, F. C. O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, p.577-595, out. 1985.
- GALPER, S.; COHN, E.; SPIEGEL, Y.; CHET, I. A collagenolytic fungus, *Cunninghamella elegans*, for biological control of plant parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.23, n.3, p.269-274, July 1991.
- GANAI, G. H.; KAUL, V. K.; CHABRA, H. K. Nematicidal action of leaf extracts of neem. **Plant Disease Research**, Ludhiana, v.7, n.2, p.279-281, 1992.
- GIESBRECHT, A . M. **Atividade antibiótica de produtos naturais**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1980. 64p. (Tese -Livre Docência).
- GIUMA, A. Y.; COOKE, R. C. Nematotoxin production by *Nematocytus haptocladus* and *N. concurrens*. **Transactions British Mycological Society**, London, v.56, p.89-94, 1971.
- GNANAPRAGASAM, N. C.; NOHOTI, M.; SURESHKUMAR, B.; UDAMULLA, G. P. Effect of 'Jawan' a neem based natural pesticide in controlling pests of tea. **Sri Lanka Journal of Tea Science**, Talawakele, v. 62, n.2, p.47-52, 1993.

- GOKTE, N.; MAESHWARI, M. L., MATHUR, V. K. Nematicidal activity of new essential oils against root-knot and cysts nematode species. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.21, p.123-127, 1991.
- GOMMERS, F. J. Biochemical Interactions between nematodes and plants and their relevance to control. **Helminthological Abstracts, Series B. Plant Nematology**, Wallingford, v.50, n. 1, p.9-24, 1981.
- GOSH, T.; SUKUL, N. C. Nematicidal principles in the leaves of *Xanthium strumarium* L. In: TAURO, P., NARWAL, S. S. (eds.). **Allelopathy in Agroecosystems**. Hisar: Indian Society of Allelopathy, 1992. p.178-180.
- GROOMBRIDGE, B. (ed.). **Global biodiversity: status of the earth's living-resources**, London: Chapman & Hall, 1992.
- GUPTA, R.; SHARMA, N. K. Nematicidal action of some species of Amaryllidaceae. **Journal of Research, Bihar**, v.5, n.1, p.69-71, 1993.
- GUPTA, R.; SHARMA, N. K.; GUPTA, R. Action of garlic (*Allium sativum* L.) extract on the juveniles of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Current Research University of Agricultural Sciences Bangalore**, Bangalore, v.24, n.5, p.91-92, 1995.
- HALLMAN, J.; SIKORA, R. A. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soilborne plant pathogenic fungi. **European Journal of Plant Pathology**, The Netherlands, v.102, n.2, p.155-162, 1996.
- HARBOURNE, J. B. (ed.). **Introduction to Ecological Biochemistry**, London: Academic Press, 1988. 140 p.
- HAROON, S.; SMART, JUNIOR; G. C. Development of *Meloidogyne incognita* inhibited by *Digitaria decumbens* cv. Pangola. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.15, n.1, p.102-105, 1983.
- HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycological Research**, Cambridge, v.95, p.641-655, 1991.
- HOAN, L. T.; DAVIDE, R. G. Nematicidal properties of root extracts of seventeen plant species on *Meloidogyne incognita*. **Philippine Agriculturist**, Los Baños, v.63, n.4, p.285-295, Oct. 1979.

- HUSSAINI, S. S.; RAO, R. V. V. P.; PANDUE, H. K. Toxicity of water soluble leaf extracts against larvae and egg masses of three *Meloidogyne* species. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.26, n.1, p.23-31, 1996.
- HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.57, n. 12, p.1025-1028, 1973.
- IONOMOTO, M. M. **Estudo taxonômico de nematóides fitoparasitos coletados no Campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, Brasil.** Piracicaba: ESALQ. 1995. (Tese-Doutorado em Fitopatologia).
- JACKSON, A. M.; McGUIRE, M. R.; LACEY, L. A.; WRAIGHT, S. P. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoreus*. **Mycological Research**, Cambridge, v.101, n.1, p.35-41, 1997.
- JASY, T.; KOSHY, P. K. Effect of certain leaf extracts and leaves of *Glyciridia maculata* Steud. as green manure on *Radopholus similis*. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.22, p.117-121, 1992.
- JATALA, P.; KAELTENBACH, M.; BOCANGEL, D. A. J. Field application of *Paecilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.12, p.226-227, 1980. (Abstr.).
- KAWAZU, K.; MURAKAMI, T.; ONO, Y., KANZAKI, H.; KOBAYASHI, A.; MIKAWA, T.; YOSHIKAWA, N. Isolation and characterization of two novel nematocidal dipeptides from an imperfect fungus, strain D1084. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tottori, v.5, n.1, p.98-101, 1993.
- KAWAZU, K.; NISHII, Y.; ISHII, K.; TAPA, M. A convenient screening method for nematocidal activity. **Agricultural Biological Chemical**, Tokyo, n. 44, p.631-635, 1980.
- KENNEDY, N.; TAMPION, J. A nematotoxin from *Nematocionus robustus*. **Transactions British Mycological Societ**, London, v.70, p.140-141, 1978.
- KHAN, S.T.; KHAN, T. A.. Effect of culture filtrates of soil fungi on the hatching and mortality of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **Current Nematology**, Allahabad, v.3, n.1, p.53-60, 1992.

- KLICH, M. A.; PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs.** North Ryde: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization Division of Food Processing, 1984. 116 p.
- KOGISO, S.; WADA, K.; MUNAKADA, K. Odoracin, a nematicidal constituent from *Daphne odora*. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v.40, p.2119-2120, 1976.
- KORAYEN, A. M.; HASABO, S. A.; AMEEN, H. H. Effects and mode of action of some plant extracts on certain plant parasitic nematodes. **Anzeiger fur Schadlingskunde, Pflanzenschutz**, v.66, n.2, p.32-36, 1993.
- KRISHNAMURTHY, G. V. G.; MURTHY, P. S. N. Further studies with plant extracts on root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) larvae. In: CHARI, M. S., RAMAPRASAD, G. (eds.) **Botanical pesticides in integrate pest management.** Rajahmundry: Indian Society of Tobacco Science, 1993. p.438-448.
- KRIZKOVA, L.; BALAN, J.; NEMEC, P. Predaceous fungi *Dactylaria pyriformis* and *D. thaumasia*: Production of attractants and nematicides. **Folia Microbiologica**, London, v.21, p.493, 494, 1976.
- LAMBERT, F.; TAYLOR, C. E. **Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), systematics, biology and control.** Academic Press: London, 1979, 477p.
- LANJEWAR, R. D.; SHUKLA, V. N. Larvicidal and ovicidal effect of *Pythium miriotylum* filtrate on *Meloidogyne incognita*. **PKV-Research Journal**, New Delhi, v.10, n.2, p.160-162, 1986.
- LAWRENCE, T.; KILCHER, M. R. The effect of fourteen root extract upon germination and seedling length of fifteen plant species. **Plant Science**, v.42, p.308-313, 1961.
- LEELA, N. K.; KHAN, R. M.; REDDY, P. P.; NIDIRY, E. S. J. Nematicidal activity of essential oils of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.20, n.1, p.57-58, 1992.
- LINFORD, M. B.; YAP, F.; OLIVEIRA, J. M. Reducting of soil population of root-knot nematode during decomposition of organic matter. **Soil Science**, Baltimore, Maryland, v.45, p.127-141, 1938.

- LIU, X.; ZHANG, A. Nematode-trapping species of *Monacrosporium* with special reference to two new species. *Mycological Research*, Great Britain, v. 8, n. 98, p. 862-868, 1994.
- LORDELLO, L. G. E. Perdas causadas por nematóides. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, v.51, n.3-4, 1976.
- MANI A.; SETHI, C. L. Interaction of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Fusarium solani* on chickpea. *Indian Journal of Nematology*, New Delhi, v.17, n.1, p.1-6, 1984.
- MANKAU, R.. Biocontrol: Fungi as nematode control agents. *Journal of Nematology*, Raleigh, v.12, p.1-4, Dec. 1979.
- MANN, J. *Secondary metabolism*. 2^a ed. Oxford: Clarendon Press, 1987. 574p.
- McDONALD, D. Some interactions of plant parasitic nematodes and higher plants. In: KRUPA, S. V.; DOMMENGUERS, Y. R. (Eds.) *Ecology of root pathogens*. 1979. p.157-281.
- MESHARAM, N. J.; GOSWAMI, B. K. Role of dominant rhizosphere fungi isolated from soil amendment with mustard and karanj cakes on hatching and mortality of *Meloidogyne incognita* juveniles. *Indian Journal of Nematology*, New Delhi, v.19, n.2, p.180-185, Jan./June 1992.
- MIYASAKA, S.; CAMARGO, O. A.; CAVALERI, P. A. *Adubação orgânica, adubação verde e rotação de culturas no Estado de São Paulo*. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 138p.
- MOJUNDER, V.; MISHRA, S. D. Effect of seed soaking in aqueous extracts of neem seed on germination of mungbean and penetration of second stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Annals of Agricultural Research*, New Delhi, v.13, n.3, p.297-299, 1992.
- MOLINA, G. C.; DAVIDE, R. G. Evaluation of microbial extracts for nematicidal activity against plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Philippine Agriculture and Resources Research Foundation, Inc.*, Los Banos, p.155-165, July 1992.

- NANDAL, S. N.; BHATTI, D. S. Preliminary screening of some weed shrubs for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, n.13, p.123-127, 1983.
- NAVES, R. L.; CAMPOS, V. P. Ocorrência de fungos predadores de nematóide no sul de Minas Gerais e estudo da capacidade predatória e crescimento *in vitro* de alguns de seus isolados. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.15, n.167, p.72-76, 1991.
- NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; MARASAS, W. F. O. *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. London: Pensylvania State University Press, 1983. 193p.
- NICOLAY, R.; SIKORA, R. A. Improved techniques for the detection of nematophagous fungi and their activity against target nematodes. **Revue de Nematologie**, Auburn, v.11, p.115-16, 1988.
- NITAO, J. K.; MEYER, S. L. F.; CHITWOOD, D. J. *In vitro* assays of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* for detection of nematode-antagonistic fungal compounds. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.31, n.2, p.172-83, 1999.
- NOGUEIRA, M. A.; OLIVEIRA, J. S.; FERRAZ, S.; PETERNELLI, L. A. Avaliação da atividade *in vitro* de extratos obtidos da parte aérea de *Mucuna aterrima* em relação a *Meloidogyne incognita* raça 3. **Revista Ceres**, Viçosa, v.41, n.236, p.506-510, 1994.
- OLTHOF, T. H. A.; ESTEY, R. H. A nematotoxin produced by the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora* Fresenius. **Nature**, London, v.197, p514-515, 1963.
- ONIFADE, A. K.; FAWOLE, B. Effect of some plant extracts on the pathogenicity of *Meloidogyne incognita* on cowpea. **Global Journal of Pure and Applied Sciences**, v.2, n.1, p.9-15, 1996.
- ORLANDO, A. O valor do óleo de quenopódio e de 'Erva de Santa Maria' - *Chenopodium ambrosioides*. L. var. *Anthelminticum* (L.) Gray no controle a nematóides que atacam raízes de vegetais cultivados. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.24, p.69-82, 1957.
- OSBORN, E. M. **British Journal of Experimental Pathology**, Oxford, v.24, p.277, 1943.

- PATRICK, Z. A. Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plant residues. **Soil Science**, v.111, p.13-18, 1971.
- PARADA, R. Y.; GUZMAN, R. F. Evaluation of the usage of plant extracts against the nematode *Meloidogyne incognita* on bean (*Phaseolus vulgaris*). **Agronomia Mesoamericana**, Guatemala, v.8, n.1, p.108-114, 1997.
- PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismo de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.417-53.
- PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. In: LUIZ, W. C., FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (eds.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: RAPP, v.2, p.1-53, 1994.
- PATEL, R. M.; DESAI, M. V. A possible biological control of root-knot nematodes. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.48, n.3, p.167-168, 1964.
- PATHAK, K. N.; KUMAR, B. Nematotoxic effects of *Trichoderma harzianum* culture filtrate on second stage juveniles of rice root knot nematode. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.25, n.2, p.223-224, Aug.-Oct. 1998.
- PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. 2^a ed. North Ryde: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization Division of Food Processing. Second Edition, Apr. 1988. 187p.
- PORTER, N.; FOX, F. M. Diversity of Microbial Products-Discovery and Application. **Pesticide Science**, Philadelphia, v.39, p.161-168, 1993.
- PRASAD, D.; SINGH, M.; SINGH, M. Synergism of sal-meal extract with DBCP, phenamiphos and metham sodium against root-knot, *Meloidogyne incognita*, juveniles. **Annals of Plant Protection Sciences**, New Delhi, v.4, n.2, p.126-130, 1995.
- REKHA, A.; SAXENA, S. K.; ARYA, R. Effect of culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* grown on different amino acids, on hatching of

- Meloidogyne incognita*. **Indian Phytopathology**, Aligarh, v.46, n.2, p.167-168, 1993.
- RICH, J. R.; RAHI, G. S.; OPPERMAN, C. H.; DAVIS, E. L. Influence of castor (*Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. **Nematropica**, Auburn, v.19, p.99-103, 1989.
- RODRÍGUEZ-KABANA, R.; KOKALIS-BURELLE, N.; ROBERTSON, D. G.; KING, P. S.; WELLS, L. W. Rotations with coastal bermudagrass, cotton, and bahiagrass for management of *Meloidogyne arenaria* and southern blight in peanut. **Journal of Nematology**, Raleigh, v.26, n.4S, p.665-668, 1994.
- ROHDE, R. A. Acetylcholinesterase in plant parasitic nematodes and anticholinesterase from *Asparagus*. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, Washington, v.27, p.121-123, 1960.
- ROHDE, R. A.; JENKINS, W., R. The chemical of resistance of *Asparagus* to *Trichodorus christiei*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.48, p.463, 1958.
- ROSSNER, J.; ZEBITZ, C. P. W. Effect of neem products on nematodes and growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants. In: **Neem Conference**, 3, 1986, Nairobi. **Proceedings...** Nairobi: [s.n.], 1986. p.611-621.
- RUESS, L.; MICHELSEN, A.; SCHMIDT, I. K.; JOWASSONS, S.; DIGHTON, J. Soil nematode fauna of a subarctic heath: potential nematicidal action of plant leaf extracts. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.7, n.2, p.11-124, 1988.
- RUBNER, A. Revision of predacious hyphomycetes in the *Dactylella-Monacrosporium* complex. **Studies in Mycology**, v.39, p.1-134, 1996.
- SAIFULLAH, N. Nematicidal and nematostatic effect of cell-free culture filtrates of *Verticillium chlamydosporium* Goddard *in vitro*. **Afro Asian Journal of Nematology**, Cairo, v.6, n.1, p.32-35, 1996.
- SAMSON, S. M.; DELAGAJE, R.; BLANKENSHIP, D. T.; CHAPMAN, J. L.; PERRY, D.; SKATRUD, P. L.; VAN FRANK, R. M.; ABRAHAM, E. P.; BALDWIN, J. E.; QUEENER, S. W.; INGOLIA, T. D. Isolation, sequence determination and expression in *Escherichia coli* of the isopenicillin N synthetase gene from *Cephalosporium acremonium*. **Nature**, London, nº 318, p.191-194, 1985.

- SANKARANARAYANAM, C.; SUNDARABANU, R. Effect of leaf extracts on growth of blackgram inoculated with vesicular arbuscular mycorrhiza (*Glomus fasciculatum*) and root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Indian Journal of Nematology*, New Delhi, v.26, n.2, p.144-147, 1996.
- SANTOS, M. M. F. B. dos. Efeito de extratos de duas formas de *Lippia alba* sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) isolado de citrus sp. Piracicaba, 1996, 105p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Bioquímica de Plantas).
- SASANELLI, N. Prospects for the use of some plants with nematicide action. *Informate Agrario*, Bari, v.51, n.48, p.55-56, 1995.
- SASSANELLI, N. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.20, n.1, p.53-55, 1992.
- SASSANELLI, N.; D'ADDABBO, T. Effect of *Cineraria maritima*, *Ruta graveolens* and *Tagetes erecta* species. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v.21, n.1, p.21-25, 1993.
- SAYRE, R. M.; PATRICK, Z. A. Selective toxicity of some volatile fatty acids to plant parasitic nematodes. *Phytopathology*, Saint Paul, v.55, n.10, p.1074, 1965. (Abstr.).
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, London, n.30, p.507-512, 1974.
- SCRAMIN, S.; SILVA, H. P.; FERNANDES, L. M. S. Avaliação biológica de extratos de 14 espécies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. *Nematologia Brasileira*, Campinas, v.1, p.89-101, 1987.
- SHARMA, G. C. Leaf extract and their action against *Meloidogyne incognita* (*in vitro*). *Journal of Phytopathological Research*, New Delhi, v.9, n.2, 155-157, 1996.
- SHARMA, M.; SAXENA, S. K. Effect of culture filtrates of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma viride* on hatching of larvae of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Current Nematology*, Allahabad, v.3, n.1, p.61-64, 1992.

- SHARMA, R., TRIVEDI, P. C. Nematicidal properties of some leaf extracts against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Phytological Research**, New Delhi, v.4, p.131-137, 1991.
- SIDDIQUI, M. A.; ALAM, M. M. Effect of látex seed dressing on *Rotylenchulus reniformis* and plant growth of some vegetables. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.16, p. 129-131, 1988.
- SIDDIQUI, M. A.; HASEEB, A.; ALAM, M. M. Control of plant parasitic nematodes by soil amendmets with lates bearing plants. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.22, p.25-28, 1992.
- SIDDIQUI, Z. A.; HUSSEIN, S. I. Control of *Meloidogyne incognita* and *Macrophomina phaseolina* on chickpea by fungal filtrates. **Pakistan Journal of Nematology**, Karachi, v.9, n.2, p.131-138, Jan./June 1992.
- SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Integrated control of a root-rot disease complex of chickpea by fungal filtrates and green manuring. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.21, n.2, p.161-164, 1993.
- SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Management of *Meloidogyne incognita* race 3 and *Macrophomina phaseolina* by fungus culture filtrates and *Bacillus subtilis* in chickpea. **Fundamental and Applied Nematology**, Montrouge Cedex, v.18, n.1, p.71-76, Mar. 1995.
- SINGH, R. S.; SITARAMAYAH, K. Effect of decomposing green leaves, sawdust, and urea on the incidence of root-knot of okra and tomato. **Indian Phytopathology**, Alligarh, v.20, n.4, p.349-355, 1967.
- TAKASUGI, M.; YACHIDA, Y.; ANETAI, M., MASAMUNE, T.; KEKSANA, K. Identification of asparagusic acid as a nematicide occurring naturally in the roots of *Asparagus*. **Chemical Letters**, Itasca, p. 43-44, 1975.
- TARJAN, A. C. Some effects of African marigold on the citrus burrowing nematode *Radopholus similis*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.50, n.8, p.577, 1960. (Abst.).
- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. North Carolina: International *Meloidogyne* Project, 1978. 111p.

- TAYLOR, C. E.; MURANT, A. F. Nematicidal activity of aqueous extracts from raspberry canes and roots. *Nematologica*, Leiden, v.12, p.488-494, 1996.
- TENENTE, R. C. V. **Influência da mucuna preta (*Schizolobium aterrimum* Piper e Tracy) no ciclo vital de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White, 1919).** Chitwood, 1949. Piracicaba, ESALQ, 1980, 46p. (Dissertação-Mestrado em Fitopatologia).
- TENENTE, R. C. V.; BETTIOL, E. M.; CARVALHO, E. R. **Bibliografia Brasileira de Nematóides.** Brasília: Embrapa, 1981.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada.** 1. Jaboticabal: Funep, 1993, 372p.
- TIYAGI, S. A.; AHMADA, A.; ALAM, M. M. Control of root-knot, reniform and stunt nematodes by root dip in leaf extract of lemongrass. *International Pest Control, Newsletter*, v.32, n.3, p.70-71, 1990.
- TIYAGI, S. A.; SIDDIQUI, M. A.; ALAM, M. M. Toxicity of an insect repellent plant to plant parasitic nematodes. *International Nematology Network*, v.3, p.16-17, 1986.
- TSAI, B. Y.; WEST, J.; VAN GUNDY, S. D. Screening plants for nematicidal agentes. In: KUBU, I., JACOBSON, M. (eds.). **Phytochemical pesticides.** Oxford: CRC Press, v.11, p.1-26, 1991.
- VADHERA, I.; SHUKLA, B. N.; BHATT, J. Interaction between reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis*) and *Fusarium solani* causing root-rot of French bean (*Phaseolus vulgaris*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, New Delhi, v.65, n.10, p.774-777, 1995.
- WANI, A. H.; ANSARI, A. P. Effect of root exsudates of some plants belonging to family Compositae on the mortality of some phytonematodes. *Current Nematology*, Allahabad, v.4, p.81-84, 1993.
- WARCUP, J. H. The soil-plate method for isolation of fungi from soil. *Nature*, London, n.166, p.117, 1950.
- WU, Y.; JENKINS, T.; BLUNDEN, G. The role of betaines in alkaline extracts of *Ascophilum nodosum* in the reduction of *Meloidogyne javanica* and

Meloidogyne incognita infestations of tomato plants. **Fundamental and Applied Nematology**, Montrouge, v.20, n.2, p.99-102, 1997.

YARBROUGH, G. G.; TAYLOR, D. P.; ROWLANDS, R. T., CRAWFORD, M. S.; LASURE, L. L. Screening microbial metabolites for new drugs: theoretical and practical issues. **The Journal of Antibiotics**, Kyoto, v.46, n.4, 1993.

ZACHEO, G. Introduction. In: KHAN, W. W. (ed.). **Nematode Interactions**. London: Chapman and Hall, 1993. p.1-25.

ZAKI, F. A. Effect of culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.22, n.1, p.41-43, 1994.

ZUCKERMAN, B. M.; MATHENY, M.; ACOSTA, N. Control of plant-parasitic nematodes by a nematicidal strain of *Aspergillus niger*. **Journal of Chemical Ecology**, Wageningen, v.20, n.1, p.33-43, Aug. 1994.

ANEXOS

ANEXO A

Meios de cultura

Empregaram-se os códigos de uso internacional para evitar equívocos. Esterilizaram-se os meios durante 15 minutos a 121 °C.

<i>AA (ÁGAR-ÁGUA)</i>	
Ágar	20 g
Água	1.000 mL

<i>CZAPEK-DOX</i>	
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,01 g
KCl	0,5 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g
NaNO ₃	2 g
Sacarose	30 g
Água	1.000 mL

<i>CZAPEK</i>	
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,01 g
KCl	0,5 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g
NaNO ₃	3 g
Sacarose	30 g
Água	1.000 mL

<i>MA (MALT-EXTRACT-ÁGAR, EXTRATO DE MALTE-ÁGAR)</i>	
Extrato de malte	20 g
ágar	18 g
água	1.000 mL

<i>PDA (POTATO-DEXTROSE-ÁGAR, BATATA-DEXTROSE-ÁGAR)</i>	
Batata	20 g
Glicose	20 g
Ágar	18 g
Água	1.000 mL

<i>OA (OATMEAL-ÁGAR, ÁGAR DE AVELA)</i>	
Flocos de aveia	30 g
Ágar	18 g
Água	1.000 mL

<i>RICHARD SOLUTION</i>	
FeCl ₂	0,02 g
KH ₂ PO ₄	5 g
KNO ₃	10 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	2,5 g
Sucrose	50 g
Água	1000 mL

<i>SNA (SYNTHETIC NUTRIENT-POOR AGAR, ÁGAR POBRE EM NUTRIENTES)</i>	
Glicose	0,5 g
KCl	0,5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
KNO ₃	1 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g
Sacarose	0,5 g
Ágar	18 g
Água	100 mL

ANEXO B

Tabelas	Página
1B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados de culturas de fungos e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e na eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i>	97
2B – Coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre os dados referentes ao estudo do efeito do tempo de incubação no peso do micélio e ao estudo da motilidade, mortalidade e a eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i>	97
3B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados de cultura de <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i> em diferentes doses diluídas e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e na eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> (a)	98
4B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados de <i>Cunninghamella elegans</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i> , em diferentes doses diluídas, e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e na eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> (b)	99
5B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados de cultura de fungos, em diferentes doses concentradas e do nematicida Aldicarbe na patogenicidade e na população de <i>Meloidogyne incognita</i> em tomateiros.....	100
6B – Resumo da análise de variância do efeito de extratos obtidos de micélios fúngicos e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i>	101

- 7B – Peso da matéria fresca (PF) em gramas e número de ovos/sistema radicular (NOS) de tomateiros inoculados com 5.000 ovos de *Meloidogyne incognita*, em casa-de-vegetação..... 102
- 8B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao número de ovos obtidos de tomateiros sob efeito de filtrados obtidos de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme*, *Mortierella* sp., *Paecilomyces lilacinus* e *Sclerotinia sclerotiorum*, e do nematicida Aldicarbe..... 103
- 9B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao peso de tomateiros inoculadas com *Meloidogyne incognita* e sob efeito de filtrados obtidos de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme*, *Mortierella* sp., *Paecilomyces lilacinus* e *Sclerotinia sclerotiorum* e do nematicida Aldicarbe..... 103

TABELA 1B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados de culturas de fungos e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e na eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Fonte de variação	G. L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob. > F (95%)
Motilidade					
Filtrados	23	35,2599	1,5330	1799,37	0,000
Erro	120	0,1022	0,0009	-	-
Total	143	35,3621	-	-	-
----- Média Geral – 0,53; Coeficiente de Variação (%) – 5,47					
Mortalidade					
Filtrados	23	29,1944	1,2693	1916,02	0,000
Erro	120	0,0795	0,0007	-	-
Total	143	29,2739	-	-	-
----- Média Geral – 0,74; Coeficiente de Variação (%) – 3,46					
Eclosão					
Filtrados	23	14,1516	0,6153	10751,47	0,000
Erro	120	0,0069	0,00006	-	-
Total	143	14,1585	-	-	-
----- Média Geral – 0,77; Coeficiente de Variação (%) – 0,98					

Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 2B – Coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre os dados referentes ao estudo do efeito do tempo de incubação no peso do micélio e ao estudo da motilidade, mortalidade e a eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Variáveis	Correlação (R ²)	Significância
Motilidade X 30 dias	-0,6950	0,0000
Mortalidade X 30 dias	0,8372	0,0000
Eclosão X 30 dias	-0,6812	0,0000
Peso do micélio X 30 dias	0,7093	0,0000

TABELA 3B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados de cultura de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* e *Paecilomyces lilacinus* em diferentes doses diluídas e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* (a).

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob.>F (95%)
Motilidade					
Filtrados	2	0,2256	0,1128	147,52	0,0000
Doses	3	0,0980	0,0327	42,72	0,0000
Filtrados x doses	6	0,2254	0,0376	49,13	0,0000
Erro	60	0,0459	0,00076	-	-
Total	71	0,5949	-	-	-
----- Média Geral – 0,18; Coeficiente de Variação (%) – 15,12					
Mortalidade					
Filtrados	2	2,49278	1,24639	2433,1	0,0000
Doses	3	7,56428	2,52143	4922,2	0,0000
Filtrados x doses	6	0,65752	0,10959	213,9	0,0000
Erro	60	0,03074	0,0005	-	-
Total	71	10,7453	-	-	-
----- Média Geral – 0,94; Coeficiente de Variação (%) – 2,41					
Eclosão					
Filtrados	2	6,1592	3,0796	36820,1	0,0000
Doses	3	0,9141	0,3047	3642,9	0,0000
Filtrados x doses	6	0,1654	0,0276	329,6	0,0000
Erro	60	0,0050	0,00008	-	-
Total	71	7,2437	-	-	-
----- Média Geral – 0,76; Coeficiente de Variação (%) – 1,20					

Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 4B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme* e *Paecilomyces lilacinus*, em diferentes doses diluídas, e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* (b).

Ensaio	Diluições								Equação de Regressão	R ²
	1:0		1:1		1:2		1:3			
Motilidade										
<i>Cunninghamella elegans</i>	3a	A	4b	B	5b	B	19c	B	$2,5224 - 0,1365X + 0,00248X^2 - 0,00001X^3*$	0,94
<i>Fusarium moniliforme</i>	4b	B	2a	A	2a	A	3b	A	$4,6374 - 0,2575X + 0,0047X^2 - 0,00003X^3*$	0,99
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	2a	A	1a	A	2a	A	2a	A	ns	-
Mortalidade										
<i>Cunninghamella elegans</i>	83a	C	49b	C	33c	C	16d	B	$-1,0087 + 0,0875X - 0,0014X^2 + 0,000008X^3*$	0,99
<i>Fusarium moniliforme</i>	98a	B	74b	B	47c	B	13d	C	$-0,3506 + 0,0284X - 0,00014X^2*$	0,99
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	100a	A	95b	A	93c	A	32d	A	$-5,9867 + 0,4346X - 0,0079X^2 + 0,00004X^3*$	0,99
Eclosão										
<i>Cunninghamella elegans</i>	64a	C	69b	C	70b	C	92c	C	$4,0450 - 0,1827X + 0,0033X^2 - 0,000018X^3*$	0,99
<i>Fusarium moniliforme</i>	10a	A	10a	A	12b	A	19c	A	$0,9805 - 0,0299X + 0,00053X^2 - 0,000003X^3*$	0,96
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	41a	B	56b	B	59c	B	81d	B	$3,5072 - 0,1572X + 0,0028X^2 - 0,000016X^3*$	0,99

* – Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns – não significativo. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989). Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 5B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de filtrados cultura de fungos, em diferentes doses concentradas e do nematicida Aldicarbe na patogenicidade e na população de *Meloidogyne incognita* em tomateiros.

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob.>F (95%)
Peso de plantas					
Blocos	3	0,02969	0,0099	0,07	0,0643
Tratamentos	(24)	28,8542	1,2023	8,71	0,0000
Filtrados	4	5,1409	1,2852	9,31	0,0000
Doses	2	5,9264	2,9632	21,47	0,0000
Filtrados x doses	8	5,6975	0,7122	5,16	0,0000
Adicionais	9	11,2716	1,2524	9,07	0,002
Fatorial x Adicionais	1	0,8178	0,8178	5,92*	-
Erro	72	9,93894	0,13804	-	-
Total	99	67,6770	-	-	-
----- Média Geral – 4,47; Coeficiente de Variação (%)– 9,69					
Número de ovos					
Blocos	3	76,5750	25,525	2,15	0,1287
Tratamentos	(17)	5443,6748	320,2161	27,00	0,0000
Filtrados	4	2153,0989	538,2747	45,38	0,0000
Doses	2	495,1064	247,5532	20,87	0,0000
Filtrados x doses	8	1064,9045	133,1131	11,22	0,0000
Adicionais	2	1717,3579	858,6790	72,40	0,0000
Fatorial x Adicionais	1	13,2071	13,2071	1,11 ^{ns}	-
Erro	51	604,8742	11,8603	-	-
Total	71	11568,7988	-	-	-
----- Média Geral – 30,74; Coeficiente de Variação (%) – 14,40					

Dados foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$. * – significativo ao nível de 5% de probabilidade, ns – não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 6B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos obtidos de micélio fúngico e do nematicida Aldicarbe na motilidade e na mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob.>F (95%)
Motilidade					
Extratos	8	8,8171	1,1021	1967,626	0,0000
Erro	45	0,0252	0,0006	-	-
Total	53	8,8423	-	-	-
----- Média Geral – 1,01; Coeficiente de Variação (%) – 2,35					
Mortalidade					
Extratos	8	6,9491	0,8686	285,067	0,0000
Erro	45	0,1371	0,0031	-	-
Total	53	7,0862	-	-	-
----- Média Geral – 0,62; Coeficiente de Variação (%) – 8,87					
Eclosão					
Extratos	8	3,7274	0,4659	10896,32	0,0000
Erro	45	0,0019	0,00004	-	-
Total	53	3,7293	-	-	-
----- Média Geral – 0,89; Coeficiente de Variação (%) – 0,73					

Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 7B – Peso da matéria fresca (PF) em gramas e número de ovos/sistema radicular (NOS) de plantas de tomate inoculadas com 5.000 ovos de *Meloidogyne incognita*, em casa-de-vegetação.

Fungo	Dose	PF	NOS
<i>Cunninghamella elegans</i>	N0	27,9	- - 1384 - -
	N1	32,3	- - 1568 - -
	N2	26,3	a - 1472 c -
Média		28,8	A - 1475 C -
<i>Fusarium moniliforme</i>	N0	28,6	- - 1392 - -
	N1	26,4	- - 624 - -
	N2	14,2	b - 640 b -
Média		23,1	B - 885 B -
<i>Mortierella</i> sp.	N0	27,2	- - 1200 - -
	N1	28,4	- - 1184 - -
	N2	31,4	a - 1264 c -
Média		29,0	A - 1216 C -
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	N0	25,3	- - 1280 - -
	N1	24,5	- - 224 - -
	N2	18,3	b B 236 a -
Média		22,7	B - 580 A -
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	N0	25,4	- - 1350 - -
	N1	28,1	- - 1344 - -
	N2	16,4	b - 1400 c -
Média		23,3	B - 1365 C -
<i>Cunninghamella elegans</i> (P)		24,8	a - - -
<i>Fusarium moniliforme</i> (P)		16,8	b - - -
<i>Mortierella</i> (P)		26,9	a - - -
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (P)		19,6	b - - -
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (P)		14,2	b - - -
Testemunha 1 (água)		20,4	b - 1688 c -
Testemunha 2 (água; planta não inoculada)		28,5	a - - -
Testemunha 3 (Aldicarbe 50 ppm)		24,2	a - 216 a -
Testemunha 4 (Czapek 80% + ovo)		27,6	a - 1424 c -
Testemunha 5 (Czapek 80%)		28,3	a - - -
Média Geral		25	- - 1105 - -
Coefficiente Variação (%)		9.69	- - 14,40 - -

N0 – sem filtrado fúngico; N1 – filtrado fúngico concentrado até 60% do volume inicial; N1 - o filtrado fúngico concentrado até 20%; P – Padrão (plantas que não foram inoculadas mas que receberam o N2 de suspensões orgânicas). Médias seguidas da mesma letra maiúscula, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989) a 5% de probabilidade. Médias seguidas da mesma letra minúscula, nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

TABELA 8B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao número de ovos obtidos de tomateiros sob efeito de filtrados obtidos de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme*, *Mortierella* sp., *Paecilomyces lilacinus* e *Sclerotinia sclerotiorum*, e do nematicida Aldicarbe.

Fungos	Diluições						Equação de Regressão	R ²
	0		40		80			
<i>Cunninghamella e legans</i>	1384a	A	1568a	C	1472a	C	ns	-
<i>Fusarium moniliforme</i>	1392b	A	624a	B	640a	B	37,2921 – 0,4885X + 0,0042X ² *	0,77
<i>Mortierella</i> sp.	1200a	A	1184a	C	1264a	C	ns	-
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	1280b	A	224a	A	236a	A	35,6441 – 0,7829X + 0,0066X ² *	0,94
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	1350a	A	1344a	C	1400a	C	ns	-

* – Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns – não significativo. Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, ou maiúscula, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989).

103

TABELA 9B – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao peso de tomateiros inoculadas com *Meloidogyne incognita* e sob efeito de filtrados obtidos de *Cunninghamella elegans*, *Fusarium moniliforme*, *Mortierella* sp., *Paecilomyces lilacinus* e *Sclerotinia sclerotiorum*, e do nematicida Aldicarbe.

Fungos	Diluições						Equação de Regressão	R ²
	0		40		80			
<i>Cunninghamella legans</i>	27,9a	A	32,3a	A	26,3a	A	ns	-
<i>Fusarium moniliforme</i>	28,6a	A	26,4a	AB	14,2a	B	5,3906 + 0,0092X – 0,0004X ² *	0,87
<i>Mortierella</i> sp.	27,2a	A	28,4a	AB	31,4a	A	ns	-
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	25,3a	A	24,5a	B	18,3b	B	5,1701 – 0,0093X*	0,70
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	25,4a	A	28,1a	AB	16,4b	B	5,0806 + 0,0253X – 0,0005X ² *	0,77

* – Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns – não significativo. Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

ANEXO C

Tabelas	Página
1C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos vegetais e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> (a).....	106
2C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos vegetais do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> (b).....	107
3C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos obtidos de esterco animal e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i>	108
4C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos obtidos das folhas de <i>Ricinus communis</i> , <i>Ruta graveolens</i> e do produto do beneficiamento dos grãos de <i>Coffea arabica</i> em diferentes doses diluídas e do nematicida Aldicarbe, na motilidade, mortalidade e eclosão de J2 de <i>Meloidogyne incognita</i>	109
5C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos obtidos de <i>Coffea arabica</i> , <i>Ricinus communis</i> e <i>Ruta graveolens</i> , em diferentes doses diluídas, e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i>	110
6C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e de esterco animal, em diferentes doses concentradas, e do nematicida Aldicarbe na patogenicidade e na reprodução de <i>Meloidogyne incognita</i>	111
7C – Peso da matéria fresca (PF) em gramas e número de ovos/sistema radicular (NOS) inoculadas com 5.000 ovos de <i>Meloidogyne incognita</i> em casa-de-vegetação.....	112

- 8C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao número de ovos obtidos de tomateiros inoculados com ovos de *Meloidogyne incognita* e sob efeito de extratos obtidos de *Brachiaria decumbens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Coffea arabica*, esterco de aves, *Leucaena leucocephala* e *Ruta graveolens*, e do nematicida Aldicarbe na patogenicidade e na reprodução de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomate (a) 114
- 9C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao peso de plantas de tomate inoculadas com *Meloidogyne incognita* e sob efeito de extratos obtidos de *Brachiaria decumbens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Coffea arabica*, esterco de aves, *Leucaena leucocephala* e *Ruta graveolens*, e do nematicida Aldicarbe na patogenicidade e na reprodução de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomate (b) 115

TABELA 1C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos vegetais e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* (a).

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob.>F (95%)
Motilidade					
Extratos	10	17,5742	1,7574	943,109	0,0000
Erro	55	0,01025	0,0019	-	-
Total	65	17,5845	-	-	-
----- Média Geral – 0,81; Coeficiente Variação (%) – 5,32					
Mortalidade					
Extratos	10	14,1403	1,4140	1300,598	0,0000
Erro	55	0,0598	0,0011	-	-
Total	65	14,2001	-	-	-
----- Média Geral – 0,74; Coeficiente Variação (%) – 4,47					
Eclosão					
Extratos	10	8,6767	0,8677	8576,43	0,0000
Erro	55	0,0056	0,0001	-	-
Total	65	8,6823	-	-	-
----- Média Geral – 0,84; Coeficiente Variação (%) – 1,19					

Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 2C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos vegetais e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* (b).

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob.>F (95%)
Motilidade					
Extratos	22	23,0336	1,0470	573,889	0,000
Erro	115	0,2098	0,0018	-	-
Total	137	23,2434	-	-	-
----- Média Geral – 0,46; Coeficiente Variação (%) – 9,37					
Mortalidade					
Extratos	22	11,0965	0,5044	254,992	0,000
Erro	115	0,2275	0,0020	-	-
Total	137	11,3240	-	-	-
----- Média Geral – 0,59; Coeficiente Variação (%) – 7,56					
Eclosão					
Extratos	22	16,6725	0,7578	645,736	0,000
Erro	115	0,1350	0,0012	-	-
Total	137	16,8075	-	-	-
----- Média Geral – 0,68; Coeficiente Variação (%) – 5,06					

Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 3C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos obtidos de esterco animal e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrad o médio	Fc	Prob.>F (95%)
Motilidade					
Extratos	4	7,5253	1,88133	1500,269	0,0000
Erro	25	0,03135	0,00125	-	-
Total	29	7,5567	-	-	-
----- Média Geral – 0,61; Coeficiente Variação (%) – 5,77					
Mortalidade					
Extratos	4	3,8043	0,95108	1051,982	0,0000
Erro	25	0,0226	0,0009	-	-
Total	29	3,8269	-	-	-
----- Média Geral – 0,79; Coeficiente Variação (%) – 3,79					
Eclosão					
Extratos	4	2,0185	0,50463	1804,629	0,0000
Erro	25	0,00699	0,00028	-	-
Total	29	2,0256	-	-	-
----- Média Geral – 0,67; Coeficiente Variação (%) – 2,49					

Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 4C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos obtidos das folhas de *Ricinus communis*, *Ruta graveolens* e do produto do beneficiamento dos grãos de *Coffea arabica* em diferentes doses diluídas e do nematicida Aldicarbe na motilidade, mortalidade e eclosão de J2 de *Meloidogyne incognita*.

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob.>F (95%)
Motilidade					
Extratos	2	0,2948	0,1474	178,76	0,0000
Doses	3	3,5767	1,1922	1445,73	0,0000
Extratos X doses	6	0,0244	0,0041	4,94	0,0004
Erro	60	0,0495	0,00082	-	-
Total	71	3,9454	-	-	-
----- Média Geral – 0,41; Coeficiente Variação (%) – 7,06					
Mortalidade					
Extratos	2	1,4167	0,7084	1046,15	0,0000
Doses	3	9,2552	3,0851	4556,26	0,0000
Extratos X doses	6	0,5960	0,0993	146,71	0,0000
Erro	60	0,0406	0,00068	-	-
Total	71	11,3085	-	-	-
----- Média Geral – 0,75; Coeficiente Variação (%) – 3,47					
Eclosão					
Extratos	2	0,5321	0,2661	3499,06	0,0000
Doses	3	0,0908	0,0303	398,16	0,0000
Extratos X doses	6	0,0058	0,00097	12,76	0,0000
Erro	60	0,0046	0,00008	-	-
Total	71	0,6855	-	-	-
----- Média Geral – 0,43; Coeficiente Variação (%) – 2,05					

Dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

TABELA 5C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos obtidos de *Coffea arabica*, *Ricinus communis* e *Ruta graveolens*, em diferentes doses diluídas, e do nematicida Aldicarbe, na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Plantas	Diluições						Equação de Regressão	R ²		
	1:0		1:1		1:2					
Motilidade										
<i>Ricinus communis</i>	3a	A	4a	A	7b	A	47c	A	$5,3887 - 0,3044X + 0,0055X^2 - 0,00003X^3*$	0,99
<i>Ruta graveolens</i>	5a	B	6ab	B	9b	A	43c	A	$4,6374 - 0,2575X + 0,0047X^2 - 0,00003X^3*$	0,99
<i>Coffea arabica</i>	9a	C	14b	C	15b	B	61c	B	$5,6929 - 0,3173X + 0,0058X^2 - 0,000032X^3*$	0,96
Mortalidade										
<i>Ricinus communis</i>	78a	B	53b	B	24c	B	7d	A	$-0,938 + 0,0657X - 0,00077X^2 + 0,000003X^3*$	0,99
<i>Ruta graveolens</i>	79a	B	43b	C	19c	C	7d	A	$-0,3506 + 0,00284X - 0,00014X^2*$	0,00
<i>Coffea arabica</i>	99a	A	92b	A	48c	A	7d	A	$-2,6145 + 0,1654X - 0,0023X^2 - 0,00001X^3*$	0,99
Eclosão										
<i>Ricinus communis</i>	7a	A	9b	A	9b	A	12c	A	$0,7149 - 0,0240X + 0,0004X^2 - 0,000002X^3*$	0,87
<i>Ruta graveolens</i>	17a	B	20b	B	21b	B	25c	B	$0,9805 - 0,0299X + 0,00053X^2 - 0,0000029X^3*$	0,96
<i>Coffea arabica</i>	21a	C	21b	C	23c	C	30d	C	$1,2571 - 0,0438X + 0,00077X^2 - 0,000004X^3*$	0,98

* – Significativo ao nível de 5% de probabilidade. Médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, ou maiúscula, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989).

TABELA 6C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao efeito de extratos de plantas e de esterco animal em diferentes doses concentradas e do nematicida Aldicarbe na patogenicidade e na reprodução de *Meloidogyne incognita*.

Fonte de variação	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado médio	Fc	Prob.>F (95%)
Peso de plantas					
Blocos	3	0,6450	0,2150	1,14	0,3506
Tratamentos	(32)	52,1086	1,6284	8,66	0,0000
Extratos	6	20,8019	3,4670	18,44	0,0000
Doses	2	4,7879	2,3940	12,73	0,0000
Extratos x doses	12	8,4961	0,7080	3,77	0,0004
Adicionais	11	17,55498	1,5959	8,49	0,0000
Fatorial x Adicionais	1	0,46775	0,46778	2,72*	-
Erro	96	18,0480	0,1880	-	-
Total	31	122,9102	-	-	-
----- Média Geral – 4,47; Coeficiente Variação (%) – 9,69					
Número de ovos					
Blocos	3	120,0590	40,02	2,04	0,1046
Tratamentos	(23)	6859,8672	298,2551	15,29	0,0000
Extratos	6	2516,8369	419,4728	21,42	0,0000
Doses	2	1543,9848	771,9924	39,42	0,0000
Extratos x doses	12	1233,3032	102,7753	5,25	0,0000
Adicionais	2	1477,5819	738,7909	37,72	0,0002
Fatorial x Adicionais	1	88,1604	88,1604	4,50*	-
Erro	69	1351,4039	19,5856	-	-
Total	131	15191,1973	-	-	-
----- Média Geral – 30,74; Coeficiente Variação (%) – 14,40					

Dados foram transformados em $\sqrt{x + 0.5}$. * – significativo ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 7C – Peso da matéria fresca (PF) em gramas e número de ovos/sistema radicular (NOS) de plantas de tomate inoculadas com 5.000 ovos de *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	Dose	PF	NOS
<i>Brachiaria decumbens</i>	N0	19,4	- 1408 -
	N1	21,8	- 624 -
	N2	23,6	a 528 b
Média		21,6	A 853 A
B			
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	N0	15,4	- 1584 -
	N1	14,1	- 1544 -
	N2	8,1	d 1320 c
Média		12,53	D 2142 B
<i>Coffea arabica</i>	N0	31,2	- 1128 -
	N1	22,3	- 608 -
	N2	16,1c	c 512 b
Média		23,2	A 749 A
B			
Esterco de aves	N0	23,4	- 1432 -
	N1	19,8	- 312 -
	N2	15,9	c 352 a
Média		19,7	BC 699 A
<i>Leucaena leucocephala</i>	N0	18,6	- 1424 -
	N1	20,2	- 576 -
	N2	17,4	c 352 a
Média		18,7	BC 784 A
<i>Ricinus communis</i>	N0	20,5	- 1440 -
	N1	15,6	- 1424 -
	N2	10,6	d 1512 c
Média		15,6	C 1459 B
D			
<i>Ruta graveolens</i>	N0	24,1	- 1288 -
	N1	26,4	- 1544 -
	N2	28,6	a 1024 c
Média		26,4	A 1285 B
<i>Brachiaria decumbens (P)</i>		21,4	a - -
<i>Chenopodium ambrosioides (P)</i>		13,4	d - -
<i>Coffea arabica (P)</i>		12,6	d - -
esterco de aves (P)		19,6	c - -

...continua...

TABELA 7C, Cont.

<i>Leucaena leucocephala</i> (P)	18,4	c	-	-
<i>Ricinus communis</i> (P)	12,1	d	-	-
<i>Ruta graveolens</i> (P)	25,2	a	-	-
Testemunha 1(água)	26,4	a	1368	c
Testemunha planta não inoculada)	23,3	a	-	-
Testemunha Aldicarbe 50 ppm)	21,4	a	160	a
Testemunha 4 (Tween 1%)	24,5	a	1288	c
Testemunha 5 (Tween 1%; planta não inoculada)	24,2	a	-	-
Média Geral	20	-	1031	-
Coefficiente de variação (%)	9,69	-	14,40	-

N0 – Nível zero de extrato; N1 – extrato concentrado até 60% do volume inicial; N2 – extrato concentrado até 20%; P – Padrão (plantas que não foram inoculadas mas que receberam o N2 de extratos). Médias seguidas da mesma letra maiúscula, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989) a 5% de probabilidade. Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

TABELA 8C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao número de ovos obtidos de plantas de tomate inoculadas com *Meloidogyne incognita* e sob efeito de extratos obtidos de *Brachiaria decumbens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Coffea arabica*, esterco de aves, *Leucaena leucocephala* e *Ruta graveolens*, e do nematicida Aldicarbe na patogenicidade e na população de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomate.

Plantas	Diluições						Equação de Regressão	R ²
	0		40		80			
<i>Brachiaria decumbens</i>	1408b	A	624a	A	528a	AB	$37,3640 - 0,4431X + 0,0032X^2$ *	0,87
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	1584a	A	1544a	B	1320a	C	ns	-
<i>Coffea arabica</i>	1128b	A	608a	A	512a	A	$32,3074 - 0,14434X$ *	0,55
Esterco de aves	1432b	A	312a	A	352a	A	$37,7853 - 0,7787X + 0,067X^2$ *	0,89
<i>Leucaena leucocephala</i>	1424b	A	576a	A	352a	A	$36,2841 - 0,2422X$ *	0,86
<i>Ruta graveolens</i>	1288ab	A	1544b	B	1024a	BC	ns	-
<i>Ricinus communis</i>	1440a	A	1424a	B	1512a	C	ns	-

* – Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns – não significativo. Médias seguidas de mesma letra minúscula, ou maiúscula, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989).

TABELA 9C – Resumo da análise de variância dos dados relativos ao peso de plantas de tomate inoculadas com *Meloidogyne incognita* e sob efeito de extratos obtidos de *Brachiaria decumbens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Coffea arabica*, esterco de aves, *Leucaena leucocephala* e *Ruta graveolens*, e do nematocida Aldicarbe na patogenicidade e na população de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomate.

Plantas	Diluições						Equação de Regressão	R ²
	0		40		80			
<i>Brachiaria decumbens</i>	19,4a	BC	21,8a	ABC	23,6a	AB	ns	-
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	15,4a	C	14,1a	D	8,1b	D	ns	-
<i>Coffea arabica</i>	31,2a	A	22,3b	BC	16,1b	BC	5,6029 – 0,0206X*	0,63
Esterco de aves	23,4a	ABC	19,8ab	ABC	15,9b	BC	ns	-
<i>Leucaena leucocephala</i>	18,6a	BC	20,2a	ABC	17,4a	BC	ns	-
<i>Ruta graveolens</i>	24,1a	AB	26,4a	A	28,6a	A	ns	-
<i>Ricinus communis</i>	20,5a	BC	15,6ab	BC	10,6b	CD	4,5955 – 0,0158X*	0,76

* – Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns – não significativo. Médias seguidas de mesma letra minúscula, ou maiúscula, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey (Banzatto e Kronka, 1989).