



UFG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**BIOCONTROLE DE *Meloidogyne javanica* POR FUNGO
MICORRÍZICO ORQUIDOIDE (*Waitea circinata*) EM TOMATEIRO**

BRUNO LEONARDO MENDES

Orientadora:
Prof(a). Leila Garcês de Araújo

Abril - 2018



UFG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

☒ Dissertação ☐ Tese

2. Nome completo do autor

BRUNO LEONARDO MENDES

3. Título do trabalho

BIOCONTROLE DE *Meloidogyne javanica* POR FUNGO MICORRÍZICO ORQUIDOIDE (*Waitea circinata*) EM TOMATEIRO

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **BRUNO LEONARDO MENDES**,
Discente, em 21/05/2021, às 14:01, conforme horário oficial de Brasília, com



fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leila Garces De Araujo, Professora do Magistério Superior**, em 25/05/2021, às 11:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2085027** e o código CRC **C6ED2D0F**.

BRUNO LEONARDO MENDES

**BIOCONTROLE DE *Meloidogyne javanica* POR FUNGO
MICORRÍZICO ORQUIDOIDE (*Waitea circinata*) EM TOMATEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Fitossanidade

Orientadora:

Prof. Dra. Leila Garcês de Araújo

Coorientadora:

Prof. Dra. Mara Rúbia da Rocha

Goiânia, GO – Brasil
2018

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

MENDES, BRUNO LEONARDO
BIOCONTROLE DE *Meloidogyne javanica* POR FUNGO
MICORRÍZICO ORQUIDOIDE (*Waitea circinata*) EM TOMATEIRO
[manuscrito] / BRUNO LEONARDO MENDES, LEILA GARCÊS DE
ARAÚJO, MARA RÚBIA DA ROCHA. - 2018.
L, 50 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. LEILA GARCÊS DE ARAÚJO; co-orientadora
Dra. MARA RÚBIA DA ROCHA.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Goiânia,
2018.
Bibliografia.

1. nematoide. 2. micorriza. 3. fungo antagonista. 4. nematoide das
galhas. I. ARAÚJO, LEILA GARCÊS DE. II. ROCHA, MARA RÚBIA DA.
III. ARAÚJO, LEILA GARCÊS DE, orient. IV. ROCHA, MARA RÚBIA DA,
co-orient. V. Título.

CDU 631/635



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº S/N da sessão de Defesa de Dissertação de **Bruno Leonardo Mendes**, que confere o título de Mestre em Agronomia, na área de concentração em Fitossanidade.

Aos dezesseis dias do mês de maio do ano de dois mil e dezoito, a partir das 08h:30min, no Auditório do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Escola de Agronomia, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada **“BIOCONTROLE DE Meloidogyne javanica POR FUNGO**

MICORRÍZICO ORQUIDOIDE (Waitea circinata) EM TOMATEIRO”. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, **Professora Leila Garcês de Araújo (ICB/UFG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Dra. Valéria de Oliveira Faleiro (EMBRAPA)** membro titular externo; **Professora Mara Rúbia da Rocha (EA/UFG)**, membro titular interno e **Professora Abadia dos Reis Nascimento (EA/UFG)**, membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido o candidato **APROVADO** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professora Leila Garcês de Araújo, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos dezesseis dias do mês de maio do ano de dois mil e dezoito.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Documento assinado eletronicamente por **Mara Rúbia Da Rocha, Professora do Magistério Superior**, em 26/05/2021, às 11:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Abadia Dos Reis Nascimento, Professor do Magistério Superior**, em 30/05/2021, às 15:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leila Garces De Araujo, Professora do Magistério Superior**, em 21/07/2021, às 12:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2091662** e o código CRC **D2D20438**.

Quanto mais nos elevamos, menores parecemos aos olhos daqueles que não sabem voar -
Friedrich Wilhelm Nietzsche

À minha mãe, meu pai e irmão.
Dedico com amor, na tentativa de
diminuir a saudade depois de todos
esses anos de ausência.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Goiás, especialmente à Escola de Agronomia e Instituto de Ciências Biológicas, agradeço pelas instalações. Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, agradeço pela oportunidade da realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela disponibilidade da bolsa de estudos.

À CENTRER-EMATER pela disponibilidade da casa de vegetação para realização da pesquisa.

À VIVATI Mudas pela doação das mudas de tomate utilizadas neste trabalho.

À professora Dra. Leila Garcês que aceitou com bondade a minha orientação e encarou os desafios de uma área completamente nova. À professora Dra. Mara Rúbia pelos ensinamentos ao longo da coorientação.

À minha família que sempre me apoia incondicionalmente e não mede esforços para que eu tenha sucesso profissional.

Aos meus bons e verdadeiros amigos que deixei em Sinop, MT. Mesmo de longe sempre me apoiaram e torceram muito por mim. Saudades.

Aos novos amigos que aqui encontrei e me acolheram de imediato. O tempo de amizade foi pouco, mas temos uma relação de irmãos. À Kellen, Jacqueline, Priscila, Nádia obrigado pela amizade verdadeira, pelas risadas e apoio emocional.

Aos colegas do PPGA e PGMP, em especial Marina Arriel, Loreнна, Rízia, Andréia, Lívia, Jéssica Maria, Matheus Costa.

Aos que fizeram pesquisa no Laboratório de Genética de Microrganismos, entre um experimento e outro os laços de amizade se formaram. Contem comigo sempre!

Aos colegas do Laboratório de Nematologia, especialmente Denner, Camila, Jessica, Leilane, Nayane, Renatinho, Leonardo, Mônica, Fran; compartilhamos a paixão pela mesma área de pesquisa. Obrigado por tudo. Sentirei falta dos cafés da tarde.

Ao meu grande amigo Vitor Rocha, no qual entrou na minha vida de uma maneira singela e hoje ocupa um espaço muito especial.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho!

Muito obrigado!!

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 EFEITO IN VITRO DO FUNGO MICORRÍZICO ORQUIDOIDE <i>Waitea circinata</i> Warcup & Talbot SOBRE <i>Meloidogyne javanica</i>.....	16
2.1 INTRODUÇÃO	18
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	20
2.2.1 Multiplicação de inóculo e extração de <i>Meloidogyne javanica</i>	20
2.2.3 Preparo da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i>	21
2.2.4 Eficiência da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i> na mortalidade de J2 de <i>Meloidogyne javanica</i>	21
2.2.5 Efeito da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i> na eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne javanica</i>	22
2.2.6 Parasitismo de ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> por micélio de <i>Waitea</i> <i>circinata</i>	23
2.3 RESULTADOS	23
2.4 DISCUSSÃO	24
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
3 EFEITO DA SUSPENSÃO MICELIAL DO FUNGO MICORRÍZICO DE ORQUÍDEA DO CERRADO BRASILEIRO NO CONTROLE DE <i>Meloidogyne javanica</i> EM PLANTAS DE TOMATE E AVALIAÇÃO DE CARACTERES AGRONÔMICOS	34
3.1 INTRODUÇÃO	36
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.2.1 Cultivo e preparo da suspensão de <i>W. circinata</i>	38
3.2.2 Patogenicidade do micélio de <i>Waitea circinata</i>	38
3.2.3 Patogenicidade da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i>	39
3.2.4 Multiplicação de inóculo e extração de <i>Meloidogyne javanica</i>	39

3.2.5	Efeito da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i> na redução populacional de <i>Meloidogyne javanica</i> e nos caracteres agronômicos de tomateiro ..	40
3.2.6	Análise estatística.....	41
3.3	RESULTADOS	42
3.3.1	Patogenicidade do micélio e da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i>	42
3.3.2	Efeito da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i> no Fator de Reprodução e Densidade Populacional de <i>Meloidogyne javanica</i> em tomateiro	42
3.3.3	Efeito da suspensão micelial de <i>Waitea circinata</i> em caracteres agronômicos de tomateiro durante interação com o patógeno.....	43
3.3.4	Análise de correlação.....	43
3.4	DISCUSSÃO	43
3.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

RESUMO

MENDES, B. L. **Biocontrole de *Meloidogyne javanica* por Fungo Micorrízico Orquidoide (*Waitea circinata*) em tomateiro.** 2018. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitossanidade) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.¹

Diversos microrganismos fitopatogênicos atacam a cultura do tomate, dentre eles o nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* que apresenta alto grau de virulência e gera prejuízos para os produtores. O uso de nematicidas sintéticos convencionais pode trazer efeitos negativos ao meio ambiente e à saúde humana, já que o efeito residual desses produtos é elevado no solo e até no próprio fruto. Portanto, é interessante a inserção de técnicas sustentáveis de controle ao manejo integrado de *M. javanica*, como o controle biológico. Por ser comprovada a eficiência do Fungo Micorrízico Orquidoide (FMO) *Waitea circinata* na ação antagonista contra brusone foliar na cultura do arroz, objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial do FMO *W. circinata* no antagonismo de *M. javanica*. Avaliou-se o efeito das concentrações 5 g, 10 g, 15 g, 20 g e 25 g de micélio/L de água da suspensão micelial de *W. circinata* na mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2). A capacidade parasítica do micélio do FMO também foi avaliada. Após testes de patogenicidade da suspensão e do micélio do FMO em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada, foram realizados experimentos em casa de vegetação para avaliar o efeito das concentrações da suspensão de *W. circinata* no fator de reprodução (FR) e densidade populacional (DP) de *M. javanica*. O efeito da suspensão do FMO em caracteres agronômicos como comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa fresca de raiz (MFR), também foi avaliado. A concentração de 25 g de micélio/L de água garantiu 60% de mortalidade de J2 em relação ao tratamento controle e apresentou regressão linear positiva. A suspensão micelial reduziu em 86% a eclosão de J2 e o micélio foi capaz de parasitar os ovos de *M. javanica*. FR e DP ajustaram-se para regressão linear negativa, a concentração de 25 g/L se destacou reduzindo o FR em 30% e a DP em 90%. Os caracteres agronômicos CPA, CR e MFR tiveram o mesmo padrão de comportamento e ajustaram-se para regressão linear quadrática. A análise de componentes principais (PCA) corroborou os dados das regressões e explicou 71,05% da variabilidade, onde o componente 1 e o componente 2, explicaram 47,16% e 23,89%, respectivamente. Este é o primeiro relato de um FMO como antagonista de nematoide. Portanto, após os resultados promissores, podemos concluir que *Waitea circinata* é um fungo que pode ser utilizado no manejo integrado de *Meloidogyne javanica*.

Palavras chave: Nematoide; Micorriza; Nematoide das galhas; fungo antagonista

¹Orientadora: Prof. Dra. Leila Garcês de Araújo. ICB-UFG
Coorientadora: Prof. Dra. Mara Rúbia da Rocha. EA-UFG

ABSTRACT

MENDES, B. L. **Biological control of *Meloidogyne javanica* by Orchid Mycorrhizae Fungi (*Waitea circinata*) on tomato plants.** 2018. 49 f. Dissertation (MSc. in Agronomy: Plant Health) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.¹

Several phytopathogenic microorganisms attack the tomato crop, among them, root-knot nematode *Meloidogyne javanica*, that is virulent and generates losses for producers. The use of conventional synthetic nematicides generates negative effects on the environment and human health, since the residual effect of these products is high in soil and fruit. Therefore, it is interesting to insert sustainable control methods into integrated management of *M. javanica*, such as biological control. Orchid Mycorrhizal Fungi (OMF) *Waitea circinata* has antagonistic action against leaf blast in rice crop, wherefore, this study aimed to evaluate the potential of the OMF *W. circinata* in antagonism to the *M. javanica*. We evaluated the effect of concentrations 5 g, 10 g, 15 g, 20 g and 25 g mycelium/L water of the mycelial suspension of *W. circinata* on the mortality and hatching of second stage juveniles (J2). The parasitic capacity of the OMF mycelium also were evaluate. After pathogenicity tests of the OMF suspension and mycelium on tomato plants cv. Santa Cruz Kada, experiments were conducted in a greenhouse to evaluate the effect of the *W. circinata* suspension on the nematode reproductive factor (RF) and nematode population density (PD). Were also evaluated the effect of fungus suspension on agronomic characteristics such as shoot length (SL), root length (RL) and fresh root mass (FRM). The concentration of 25 g of mycelium/L of water guaranteed 60% mortality of J2 in relation to the control treatment and presented positive linear regression. The mycelial suspension reduced 86% hatching of J2 and the mycelium was able to parasitize the *M. javanica* eggs. RF and PD were adjusted for negative linear regression, the concentration of 25 g/L of water stood out reducing by 30% and 90% the RF and PD, respectively. The data of agronomic characters had the same response pattern and adjusted for quadratic linear regression. Principal component analysis (PCA) corroborated regressions data and explained 71.05% of variability, the component 1 and component 2 explain for 47.16% and 23.89%, respectively. This is the first report of an orchid mycorrhizal fungus as a nematode antagonist. Therefore, after promising results, we can conclude that *Waitea circinata* is a fungus that can be used in the integrated management of *Meloidogyne javanica*.

Key words: nematode; mycorrhiza; root-knot nematode; antagonist fungus

¹Advisor: Prof. Dra. Leila Garcês de Araújo. ICB-UFG
Co-advisor: Prof. Dra. Mara Rúbia da Rocha. EA-UFG

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais importantes que agregam alto valor de produção. Em 2017 a área cultivável de tomate chegou a 64,7 mil hectares com a maior produção do país, 4,4 milhões de toneladas (IBGE, 2018). Apesar das grandes áreas de cultivo e alta produtividade, o tomateiro é atacado por inúmeros patógenos, necessitando da aplicação de agrotóxicos e, conseqüentemente, encarecendo os custos de produção.

Dentre os patógenos que mais atacam a cultura, destaca-se o fitonematoide *Meloidogyne javanica*. Esta espécie apresenta alto grau de polifagia, está amplamente disseminada nas áreas cultiváveis e é limitante ao sucesso de altas produções de tomate. Se este fitonematoide for introduzido na área de cultivo, a erradicação se torna difícil e economicamente inviável, pois os nematicidas sintéticos convencionais são caros, tóxicos e poluentes. O tomate é consumido, na maioria das vezes, em sua forma *in natura* e com isso é necessário a busca por práticas sustentáveis de controle de fitonematoides, como o controle biológico, que é uma ótima alternativa no manejo de doenças (Agrios, 2005; Ferraz & Freitas, 2004).

O controle biológico se apresenta como uma alternativa viável para o manejo de fitonematoides, pois minimiza o dano ambiental, diminui o risco à saúde humana e é economicamente viável quando comparado aos métodos sintéticos convencionais (Coimbra & Campos, 2005). Produtos a base de fungos e bactérias são utilizados no controle destes parasitas e é interessante a busca frequente por novos agentes de biocontrole que possuam diferentes modos de ação.

Micorriza é o termo que define a complexa associação simbiótica entre fungos e raízes de plantas (Antoniolli e Kaminski, 1991). O Fungo Micorrízico Orquidoide (FMO) *Waitea circinata* foi isolado da raiz de uma orquídea rupícola presente no Cerrado brasileiro (Sousa, 2012) e já teve sua capacidade de biocontrole de doenças da cultura do arroz (*Oryza sativa*), por vários modos de ação, comprovada (Carvalho et al., 2015). Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram avaliar a) a capacidade nematicida de concentrações da suspensão micelial de *W. circinata*; b) o efeito da suspensão na eclosão de juvenis de segundo estágio de *M. javanica*; c) capacidade parasítica do micélio de *W. circinata* sobre ovos de *M. javanica*; d) o efeito da suspensão de *W. circinata* no fator de reprodução e densidade populacional de *M. javanica* em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada; e) avaliar o efeito da suspensão de *W. circinata* nos caracteres agronômicos comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e massa fresca de raiz em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada.

CAPÍTULO 1

EFEITO *IN VITRO* DO FUNGO MICORRÍZICO ORQUIDOIDE *Waitea circinata* Warcup & Talbot SOBRE *Meloidogyne javanica*

Bruno Leonardo Mendes²; Leila Garcês de Araújo³; Mara Rúbia da Rocha⁴

¹ Capítulo elaborado conforme as normas do periódico científico Mycorrhiza.

²Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

³Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil

⁴Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

Efeito *in vitro* do Fungo Micorrízico Orquidoide *Waitea circinata* Warcup & Talbot sobre *Meloidogyne javanica*

Bruno Leonardo Mendes¹ Leila Garcês de Araújo² Mara Rúbia da Rocha³

¹Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

²Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

³Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

B. L. Mendes

+55 62 9 8186 3623

bleomendes@gmail.com

RESUMO

O nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* representa uma ameaça para a agricultura e é crescente a demanda por opções alternativas de controle, já que os nematicidas sintéticos não tendem à sustentabilidade. Não há relatos de biocontrole de Fungos Micorrízicos Orquidoides (FMO) contra nematoides fitoparasitas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito *in vitro* de concentrações (5 g, 10 g, 15 g, 20 g e 25 g de micélio por litro de água) da suspensão micelial do FMO *Waitea circinata* na mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* e a capacidade do micélio em parasitar os ovos de *M. javanica*. A concentração de 25 g/L de água, garantiu 60% de mortalidade de J2 em relação ao tratamento controle, onde a mortalidade foi de 6,8%. A suspensão micelial de *W. circinata* reduziu em 86% a eclosão de J2 e o micélio foi capaz de parasitar os ovos de *M. javanica*. Este é o primeiro relato de um FMO apresentando características nematicidas onde *W. circinata* mostrou ser promissor no controle biológico de *M. javanica*.

Palavras-chave: nematoide; nematoide das galhas; micorriza

2.1 INTRODUÇÃO

Os nematoides parasitas de plantas são agentes patogênicos cosmopolitas que possuem ampla gama de hospedeiros e causam perdas anuais de safra em torno de US\$ 157 bilhões pelo mundo (Singh et al., 2015). Os nematoides endoparasitas sedentários, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, são os mais prejudiciais, pois parasitam quase todos os grupos de plantas de importância agrícola.

Meloidogyne javanica é a principal espécie deste gênero e está amplamente distribuída nas áreas produtivas do Brasil, especialmente em regiões onde as estações são bem definidas, como o Cerrado. Por ser altamente virulento, *M. javanica* caracteriza-se por ter alto grau de polifagia o que gera perdas econômicas frequentes na agricultura nacional (Pinheiro et al., 2014; Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Se este fitonematoide for introduzido na área de cultivo, a erradicação se torna difícil e economicamente inviável, pois os nematicidas sintéticos convencionais são caros, tóxicos e poluentes. É interessante a busca por práticas sustentáveis de controle de fitonematoides, como o controle biológico, que é uma ótima ferramenta atrelada ao manejo integrado (Agrios, 2005; Ferraz & Freitas, 2004).

Microrganismos utilizados no controle biológico de fitonematoides possuem modos de ação direta e indireta, como é o caso dos fungos *Purpureocillium lilacinum* que parasita juvenis de segundo estágio (J2); *Trichoderma harzianum* que parasita ovos e J2, produz quitinase e protease no momento do parasitismo e pode induzir resistência na planta; e *Pochonia chlamydosporia*, que utiliza estratégias sofisticadas para infectar os ovos e fêmeas de fitonematoides (Kerry, 2001; Sharon et al., 2001; Kiriga et al., 2018), da rizobactéria *Bacillus subtilis*, que reduz a eclosão de J2 e altera a atratividade das raízes, em razão da produção de toxinas e alteração dos exsudatos radiculares (Sikora 1991; Rao et al.,

2018; Zhao et al., 2018) e Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) que garantem maior tolerância à planta, competem por nutrientes e espaço, além de alterar bioquimicamente a rizosfera (Pinochet et al., 1996; Hol and Cook, 2005; Elsen et al., 2008; Bagyaraj, 2014; Schouteden et al., 2015).

Micorriza é o termo que define a associação simbiótica entre fungos e raízes de plantas e os fungos que interagem nessa associação são chamados de fungos micorrízicos (Antoniolli e Kaminski, 1991). Já é conhecido o potencial de biocontrole de FMAs, contudo, não há relatos dessa interação em Fungos Micorrízicos Orquidoides (FMO).

O FMO *Waitea circinata* foi isolado da raiz de *Epidendrum nocturnum*, uma orquídea rupícola presente no Cerrado brasileiro (Sousa, 2012) e já teve sua capacidade de biocontrole de doenças da cultura do arroz (*Oryza sativa*) comprovada. Carvalho et al., (2015) utilizou o extrato bruto de *W. circinata* e obteve diminuição do crescimento micelial de *M. oryzae* em 75% e inibição da formação do apressório em 100%. Os mesmos autores comprovaram que *W. circinata* produziu metabólitos voláteis e não-voláteis e reduziu o crescimento micelial de *Sarocladium oryzae* em 94% e 53%. O micélio do fungo *W. circinata* foi capaz de reduzir a área da colônia de *Cochliobolus miyabeanus* em 93%, *Monographella albescens* em 77%, *Rhizoctonia oryzae* em 7% (Carvalho et al., 2018).

Tendo em vista os resultados obtidos em outros patossistemas e visando identificar alternativas sustentáveis para o controle de *M. javanica*, o presente trabalho objetivou avaliar *in vitro* a) a capacidade nematicida da suspensão micelial de *Waitea circinata*; b) efeito da suspensão micelial de *W. circinata* En07 na eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) e c) capacidade parasítica do micélio de *Waitea circinata*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em condições de laboratório nas coordenadas geográficas Latitude: 16° 40' 48" Sul, Longitude 49° 15' 18" Oeste, altitude de 760 m, clima tropical com estação seca (Classificação climática de Köppen-Geiger: Aw). Foram conduzidos três ensaios visando avaliar o efeito de concentrações da suspensão micelial do FMO *W. circinata* na mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica*; dois ensaios foram conduzidos com objetivo de avaliar o efeito da suspensão micelial do FMO na eclosão de J2 de *M. javanica* e outros dois ensaios para avaliar a capacidade parasítica do micélio de *W. circinata* sob os ovos de *M. javanica*.

2.2.1 Multiplicação de inóculo e extração de *Meloidogyne javanica*

O inóculo de *M. javanica* foi multiplicado em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada Gigante, sob condições de casa de vegetação. Para a extração dos ovos e juvenis de segundo estágio (J2), utilizou-se a metodologia de Hussey & Barker (1973). As raízes das plantas foram lavadas, cortadas em fragmentos de aproximadamente dois centímetros e trituradas em liquidificador em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 30 segundos. A suspensão obtida foi vertida em peneiras de 100 e 500 mesh. O material retido na peneira de 500 mesh foi lavado sob torneira para retirar o hipoclorito de sódio e, em seguida, recolhido em um Erlenmeyer. Antes da realização dos ensaios, todos os materiais foram autoclavados e esterilizados. Para a realização dos ensaios, ovos e J2 foram desinfestados em solução de Cloranfenicol 0,5% por dois minutos. A espécie *Meloidogyne javanica* foi confirmada a partir do padrão perineal das fêmeas e a partir do fenótipo isoenzimático da esterase.

2.2.3 Preparo da suspensão micelial de *Waitea circinata*

O fungo *W. circinata* foi isolado a partir de raízes da orquídea do cerrado brasileiro, *Epidendrum nocturnum* e recebeu o código BRM 32644 (Silva et al., 2016; Carvalho et al., 2015). O FMO foi crescido em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada). Após o crescimento por oito dias, o micélio foi raspado com auxílio de uma lâmina de bisturi e armazenado em um frasco de vidro autoclavado. Para o preparo da suspensão, o micélio raspado foi colocado em Erlenmeyers com água destilada autoclavada e mantido sob agitação constante de 140 rpm por 24 horas. Após o período de agitação, a suspensão foi filtrada em peneira de malha 500 mesh esterilizada e mantida em béqueres autoclavados até o momento da realização do experimento.

2.2.4 Eficiência da suspensão micelial de *Waitea circinata* na mortalidade de J2 de *Meloidogyne javanica*

A suspensão contendo J2 de *M. javanica*, foi levada para contagem com auxílio de uma Câmara de Peters sob microscópio óptico (aumento de 40 x) e calibrada para conter em torno de 200 indivíduos por mL. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos consistiram nas concentrações de 5 g, 10 g, 15 g, 20 g e 25 g de micélio de *W. circinata* por litro de água destilada autoclavada. A testemunha consistiu em água destilada autoclavada. Tubos tipo Falcon com volume de 15 mL receberam 1 mL da suspensão de nematoides (aproximadamente 200 J2) e 4 mL da suspensão de *W. circinata* e foram mantidos por 24 horas em temperatura ambiente de laboratório (20° C e 27°C).

Após as 24 horas, realizou-se a avaliação da mortalidade de J2, seguindo a metodologia de Chen & Dickson (2000), sendo adicionado 100 µL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1 mol.L⁻¹ à suspensão e verificada a disposição dos nematoides. Os J2 que se encontravam retos e imóveis foram considerados mortos e os que estavam curvados e/ou móveis foram considerados vivos. Em cada parcela foram contados 100 nematoides e obtida a porcentagem de mortalidade de J2. O experimento foi realizado três vezes e a média dos experimentos foi utilizada para a análise de variância. Os dados foram submetidos ao “teste F” e observada diferença estatística, foi feita a análise de regressão com auxílio do software estatístico R[®] versão 3.4.3, R Core Team (2018).

2.2.5 Efeito da suspensão micelial de *Waitea circinata* na eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*

A suspensão contendo ovos de *M. javanica* foi levada para contagem com auxílio de uma Câmara de Peters sob microscópio óptico (aumento de 40 x) e calibrada para conter aproximadamente 200 ovos por mL. O tratamento utilizado foi a suspensão micelial de *W. circinata* En07 na concentração de 5 g de micélio/L de água e o tratamento controle consistiu em água destilada autoclavada. O ensaio foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 30 repetições. Tubos tipo Falcon esterilizados com volume de 15 mL receberam 1 mL da suspensão de ovos de *M. javanica* e 4 mL da suspensão micelial de *W. circinata* na concentração de 5 g de micélio por litro de água destilada autoclavada. Esta suspensão foi mantida em temperatura ambiente em laboratório (20° C a 27° C) por sete dias. Após esse período, contou-se o número de J2 que eclodiram dos ovos. O ensaio foi repetido duas vezes e a média foi utilizada para as análises estatísticas e submetidas ao Teste t (p<0,01).

2.2.6 Parasitismo de ovos de *Meloidogyne javanica* por micélio de *Waitea circinata*

A suspensão de inóculo contendo ovos de *M. javanica* foi calibrada para conter aproximadamente 200 ovos por mL. Foram utilizados discos de micélio de *W. circinata* En07 e o controle consistiu em discos de ágar-ágar sem a presença do fungo. O delineamento foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 30 repetições. Cada parcela foi composta por um tubo tipo Falcon com volume de 15 mL. Cada tubo recebeu 1 mL da suspensão de ovos + 5 mL de água destilada autoclavada e três discos de micélio de *W. circinata* En07 ou discos de ágar-ágar com aproximadamente 8 mm de diâmetro, conforme o tratamento. Os tubos ficaram em agitação constante de 80 rpm. O ensaio foi realizado duas vezes e as médias dos dois ensaios foram submetidas a teste t ($p < 0,05$).

2.3 RESULTADOS

A porcentagem de mortalidade de J2 de *M. javanica* aumentou à medida que foi aumentada a concentração da suspensão micelial de *W. circinata*, apresentando regressão linear significativa ($p < 0,05$) (Figura 1). A concentração de 25 g de micélio/L de água, aumentou em 60% a mortalidade de J2 em relação ao tratamento controle, observou-se perceptível mudança na aparência física do nematoide.

A suspensão micelial de *W. circinata* afetou a eclosão de J2 de *M. javanica*, reduzindo em 86% em relação ao tratamento controle. No tratamento com o fungo, 11% dos J2 eclodiram, diferindo do controle, que apresentou 80% de eclosão (Tabela 1).

O micélio de *W. circinata* foi capaz de parasitar ovos de *M. javanica* (Figura 2-f). As hifas, que são perceptíveis parasitando os ovos, são largas, septadas e possuem constrição em ângulo reto (90°), típico de fungos rizoctonioides (Figura 2-d). Em média,

13% dos ovos foram parasitados, diferindo do controle (Tabela 1). Durante sete dias de avaliação, não houve parasitismo de juvenis de segundo estágio. Alguns ovos submetidos à suspensão micelial de *W. circinata* apresentaram falha na embriogênese, ausência do juvenil de primeiro estágio (J1) em seu interior e coloração escurecida, indicando deterioração (Figura 2-b). No tratamento controle os ovos completaram a embriogênese (Figura 2-a) e em alguns casos houve a presença do J1 (Figura 2-c) e do J2 (Figura 2-e).

2.4 DISCUSSÃO

O aumento linear da mortalidade de J2 de *M. javanica*, em função do aumento da concentração da suspensão micelial de *W. circinata* (Figura 1), provavelmente está relacionado com a capacidade deste fungo em produzir as enzimas glucanase, quitinase e protease, que degradam polímeros da cutícula de juvenis e ovos de fitonematoides. Carvalho et al., (2015) comprovaram que *Waitea circinata* foi capaz de produzir nas primeiras 24 horas de cultivo *in vitro*, glucanase, quitinase e protease. A suspensão micelial de *W. circinata*, pode conter quantidades significativas dessas enzimas, o que pode explicar a porcentagem de mortalidade de J2 (62,8%) (Figura 1) e eclosão (11%) (Tabela 1) de J2 quando submetidos à suspensão desse fungo.

A suspensão micelial de *W. circinata* exerceu efeito direto nos ovos e J2 e o micélio de *W. circinata* foi capaz de parasitar os ovos de *M. javanica*. Estes modos de ação são encontrados em microrganismos utilizados no controle biológico de fitonematoides, como é o caso dos fungos *Trichoderma longibrachiatum*, *Purpureocillium lilacinum* e *Pochonia chlamydosporia* que produzem enzimas que atuam diretamente na eclosão e na mobilidade de J2, além de poder parasitar os ovos e/ou J2 de fitonematoides. A rizobactéria

Bacillus subtilis produz compostos químicos que são liberados na rizosfera e alteram a capacidade quimiossintática dos fitonematoides (Hermosa et al., 2000; Kepenekci et al., 2018; Berlitz et al., 2016).

AL-Shammari et al. (2013) testaram a efeito nematicida da suspensão de *Trichoderma longibrachiatum* sobre *Meloidogyne javanica* e observaram uma redução de 8,9% na taxa de eclosão de J2 e aumento de 64,5% de mortalidade dos J2 após 72 horas de exposição dos fitonematoides à suspensão do fungo. Estes resultados são semelhantes aos encontrados no presente trabalho, onde a suspensão micelial de *W. circinata* foi capaz de reduzir em 69% a eclosão de J2 e promoveu a mortalidade de 62,8% de J2 de *M. javanica* após 24 horas de exposição dos fitonematoides à suspensão. A suspensão micelial de *W. circinata* apresentou o mesmo modo de ação da suspensão de *T. longibrachiatum*, os dois fungos podem ter liberado os mesmos compostos químicos ao meio, porém em quantidades diferentes. Isso pode explicar a diferença de horas em que os fitonematoides ficaram expostos às suspensões dos fungos e mesmo assim obtiveram resultados semelhantes para mortalidade de J2. Contudo, a suspensão de *W. circinata* foi capaz de reduzir a eclosão de J2 em 60,1% em relação a suspensão de *T. longibrachiatum*, mostrando ser mais eficiente neste modo de ação.

O FMO *W. circinata* possui preferência por parasitar os ovos. Essa característica está presente no fungo *Purpureocillium lilacinum* que parasita apenas os ovos e é utilizado no manejo de fitonematoides. Jatala (1986), afirma que fungos que parasitam os ovos de fitonematoides interagem bioquimicamente através da produção de enzimas que quebram as ligações peptídicas do colágeno e glicoproteínas que estão presentes na parede celular dos ovos. Sabe-se que *W. circinata* produz a enzima protease, contudo, este fungo poderia estar

produzindo a enzima colagenase, isso poderia explicar a especificidade do FMO em parasitar apenas ovos de *M. javanica*, mas isso ainda precisa ser comprovado.

Este é o primeiro relato de um Fungo Micorrízico Orquidoide com características nematocidas, em que a suspensão micelial é capaz de promover a morte de juvenis de segundo estágio, agir diretamente nos ovos reduzindo a eclosão dos juvenis e o micélio ser capaz de parasitar os ovos. Portanto, *Waitea circinata* é um fungo que mostrou ser promissor no controle biológico de *Meloidogyne javanica*. Estudos posteriores devem ser realizados visando caracterizar e quantificar as enzimas que são liberadas à suspensão.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Phytopathology**. Fifth Edition. Elsevier Academic Press.USA. 922p., 2005
- ANTONIOLLI, ZAIDA INES; KAMINSKI, JOÃO. MICORRIZAS. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 21, n. 3, p. 441-455, Dec. 1991.
- AL-SHAMMARI, T. A.; BAHKALI, A. H.; ELGORBAN, A. M.; EL-KAHKY, M. T.; AL-SUM, B. A. The use of *Trichoderma longibrachiatum* and *Mortierella alpina* against root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato. **J. Pure Appl. Microbiol.** 7:199-207 – 2013.
- BAGYARAJ, D. J. **Mycorrhizal Fungi**. Proc Indian Natn Sci Acad 80 No. 2 June 2014 Spl. Sec. pp. 415-428.
- BAKER, K F & COOK, R J, 1974. **Biological Control of Plant Pathogens**, p 110.
- BALDONI, D. B. **Prospecção de fungos para produção de quitinases por fermentação em estado sólido**. 2016. 84 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

- 219 BALLHORN, D. J.; YOUNGINGER, B. S.; KAUTZ, S. An aboveground pathogen
220 inhibits belowground rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi in *Phaseolus vulgaris*.
221 **BMC Plant Biology** 2014, 14:321.
- 222 BERLITZ, D. L.; RABINOVITCH, L.; MACHADO, V.; MATSUMURA, A. T. S.;
223 GUIMARÃES, A. M.; SANTIN, R. C.; CASSAL, M.; FIUZA, L. M. Evaluation of
224 Biocontrol of the *Meloidogyne javanica* with *Bacillus subtilis* and *Purpureocillium*
225 *lilacinus* in greenhouse with Lettuce. **International Journal of Research in Engineering,**
226 **IT and Social Sciences**. Volume 06 Issue 07, July 2016, Page 38-45.
- 227 CARVALHO, J. C. B.; SOUSA, K. C. I.; BRITO, D. C.; CHAIBUB, A. A.; LUZINI, A.
228 P.; CÔRTEZ, M. V. C. B.; FILIPPI, M. C. C.; KATO, L.; VAZ, B. G.; COSTA, H. B.;
229 ROMÃO, W.; ARAÚJO, L. G. Biocontrol potential of *Waitea circinata*, an orchid
230 mycorrhizal fungus, against the rice blast fungus. **Trop. plant pathol.** (2015) 40:151–159.
- 231 CHAVAN, S.B.; DESHPANDE, M. V. Chitinolytic enzymes: na appraisal as a product of
232 comercial potential. **Biotechnol Prog.** 2013 Jul-Aug;29(4):833-46.
- 233 CHEN, S.Y. & DICKSON, D.W. A technique for determining live second-stage juveniles
234 of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**. 32:117-121. 2000.
- 235 CHEN, W.; JUAN, L.; HONGHUI, Z.; PENGYANG, X.; JEZHONG, C.; QING, Y.
236 Arbuscular Mycorrhizal Fungus Enhances Lateral Root Formation in *Poncirus trifoliata*
237 (L.) as Revealed by RNA-Seq Analysis. **Front. Plant Sci.** 8:2039. 2017.
- 238 DALLA COSTA, M.; LOVATO, P. E.; SETE, P. B. Micorrização e indução de quitinases
239 e β -1,3-glucanases e resistência à fusariose em porta-enxerto de videira. **Pesq. agropec.**
240 **bras.**, Brasília, v.45, n.4, p.376-383, abr. 2010.
- 241 DUMAS, E. D.; ASSELIN, A.; GIANINAZZI, V.; GOLLOTTE, A.; GIANINAZZI, S.
242 Chitinase isoforms in roots of various pea genotypes infected with arbuscular mycorrhizal
243 fungi. **Plant Science**. 99(1994) 27-37.
- 244 Elsen A., Gervacio D., Swennen R., De Waele D. (2008). AMF-induced biocontrol against
245 plant-parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. **Mycorrhiza** 18, 251–256.
- 246 FRANÇA, S. C. **Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares nos manejos**
247 **convencional e orgânico de citros e suas interações com *Phytophthora* parasítica.**

- 2004,106f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Escola Superior de
Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.
- FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa:
UFV, 84p. 2004.
- GIOVANNETTI, M.; TOSI, L.; TORRE, G.; dela ZAZZERINE, A. Histological,
physiological and biochemical interactions between vesicular-arbuscular mycorrhiza and
Thielaviopsis basicola in tobacco plants. **Journal of Phytopathology**, 131, 265–274.
1991.
- GRAMINHA, E. B. N.; MONTEIRO, A. C.; SILVA, H. C.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA,
A. J.; Controle de nematóides parasitos gastrintestinais por *Arthrobotrys musiformis* em
ovinos naturalmente infestados mantidos em pastagens. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília,
V.40, n.9, p.927-933, set. 2001.
- HERMOSA, M.R.; GRONDONA, I.; ITURRIAGA, E.A.; DIAZ-MINGUEZ, J.M.;
CASTRO, C.; MONTE, E.; GARCIA-ACHA, I. Molecular characterization and
identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. **Applied Environmental
Microbiology**, v.66, p. 1890-1898, 2000.
- HOL, G.; COOK, R. An overview of arbuscular mycorrhizal fungi–nematode interactions.
Basic and Applied Ecology 6(6):489-503 – 2005
- HUSSEY RS; BARKER KR. 1973. A comparison of methods collecting inocula of
Meloidogyne spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter** 57: 1025-1028.
- Keel BG, Zettler LW, Kaplin BA (2011) Seed germination of *Habenaria repens*
(Orchidaceae) in situ beyond its range, and its potential for assisted migration imposed by
climate change. **Castanea** 76: 43–54.
- KEPENEKCI, I.; SELCUK, H.; ERCIN O.; EDWIN E. L. Application methods of
Steinernema feltiae, *Xenorhabdus bovienii* and *Purpureocillium lilacinum* to control root-
knot nematodes in greenhouse tomato systems. **Crop Protection**. Volume 108, June 2018,
Pages 31-38.
- KERRY, B. R. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium*
Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: BUTT,

- 277 T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Eds). **Fungi as biocontrol agents: Progress,**
 278 **problems and potential.** Wallingford: CABI Publishing, 2001. 155-167 p.
- 279 Kiriga, A. W.; Solveig Haukeland, George M. Kariuki, Danny L. Coyne, Nikolai V. Beek.
 280 Effect of *Trichoderma* spp. and *Purpureocillium lilacinum* on *Meloidogyne javanica* in
 281 commercial pineapple production in Kenya, **Biological Control**, Volume 119, 2018, Pages
 282 27-32,
- 283 LEWINSOHN, T.M. & PRADO, P.I. 2005. Quantas espécies há no Brasil?
 284 **Megadiversidade** 1(1): 36-42.
- 285 MAIA, L. C; SILVA, F. S. B.; GOTO, B. T. Estrutura, ultraestrutura e germinação de
 286 glomerosporos. In: SIQUEIRA, J. O. et al., eds. **Micorrizas: 30 Anos de Pesquisa no**
 287 **Brasil.** 1 ed. Lavras: UFLA. 2010.
- 288 Pinochet J., Calvet C., Camprubí A., Fernández C. (1996). Interactions between migratory
 289 endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops: a review.
 290 **Plant Soil** 185, 183–190.
- 291 POZO, M. J.; AGUILAR, C. A.; DUMAS-GAUDOT, E.; BAREA, J. M. Chitosanase and
 292 chitinase activities in tomato roots during interactions with arbuscular mycorrhizal fungi or
 293 *Phytophthora parasítica*. **Journal of Experimental Botany**, Vol. 49, No. 327, pp. 1729–
 294 1739, October 1998.
- 295 PYLRO, V. S. et al. Brazilian Microbiome Project: Revealing the Unexplored Microbial
 296 Diversity—Challenges and Prospects. **Microbial Ecology**, v. 67, n. 2, p. 237–241, 31 out.
 297 2013.
- 298 RASMUSSEN, H. N.; RASMUSSEN, F. N. 'Trophic relationships in orchid mycorrhiza -
 299 diversity and implications for conservation.' **Lankesteriana**, vol 7, no. 1-2, pp. 334-341.
 300 2007
- 301 Rao, M. S.; Kamalnath, M., R. Umamaheswari, R. Rajinikanth, P. Prabu, K. Priti, G.N.
 302 Grace, M.K. Chaya, C. Gopalakrishnan. *Bacillus subtilis* IIHR BS-2 enriched
 303 vermicompost controls root knot nematode and soft rot disease complex in carrot. **Scientia**
 304 **Horticulturae**, Volume 218, 2017, Pages 56-62.

- 305 SAUTER, M.; HAGER, A. The mycorrhizal fungus *Amanita muscaria* induces chitinase
306 activity in roots and in suspension-cultured cells of its host *Picea abies*.
307 **Planta**(1989)179:61-66.
- 308 SCHÄFER, T.; HANKE, M. V.; FLACHOWSKY, H.; KÖNIG, S.; PEIL, A.; KALDORF,
309 M.; POLLE, A.; BUSCOT, F. Chitinase activities, scab resistance, mycorrhization rates
310 and biomass of own-rooted and grafted transgenic apple. **Genet Mol Biol** 35:466–473-
311 2012.
- 312 Schouteden N, De Waele D, Panis B, Vos CM. Arbuscular Mycorrhizal Fungi for the
313 Biocontrol of Plant-Parasitic Nematodes: A Review of the Mechanisms Involved.
314 **Frontiers in Microbiology**. 2015; 6:1280. doi:10.3389/fmicb.2015.01280.
- 315 SIKORA, R. A.; PADGHAM, J. L. Biological control potential and modes of action of
316 *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. **Crop Protection**,
317 Amsterdam, v. 26, p. 971-977, 2007.
- 318 SINGH, SATYANDRA; SINGH, BIJENDRA; SINGH, A. P. Nematodes: A Threat to
319 Sustainability of Agriculture. **Procedia Environmental Sciences**. 29 (2015) 215–216.
- 320 SIQUEIRA, J. O. Micorrizas e Micorrizologia. In: SIQUEIRA, J. O. (Ed.). Avanços em
321 fundamentos e aplicação de micorrizas. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e
322 DCF, 1996. p. 1-4.
- 323 SPANU, P.; BOILER, T; LUDWIG, A.; WIEMKEN, A.; FACCIO, A.; FASOLO, P. B.
324 Chitinase in roots of mycorrhizal *Allium porrum*: regulation and localization. **Planta**
325 (1989) 177:447~455.
- 326 STIRLING, G.R. 1991. **Biological control of plant-parasitic nematodes**. Wallingford,
327 UK, CAB International. 282 p.
- 328 VOS, C.; CLAERHOUT, S.; MKANDAWIRE, R.; PANIS, B.; WAELE, D. D.; ELSSEN,
329 A. Arbuscular mycorrhizal fungi reduce root-knot nematode penetration through altered
330 root exudation of their host. **Plant Soil** (2012) 354:335–345.
- 331 Zhao, D.; Hui Zhao, Di Zhao, Xiaofeng Zhu, Yuanyuan Wang, Yuxi Duan, Yuanhu Xuan,
332 Lijie Chen, Isolation and identification of bacteria from rhizosphere soil and their effect on
333 plant growth promotion and root-knot nematode disease. **Biological Control**. Volume 119,
334 2018, Pages 12-19.

Figuras e Tabelas

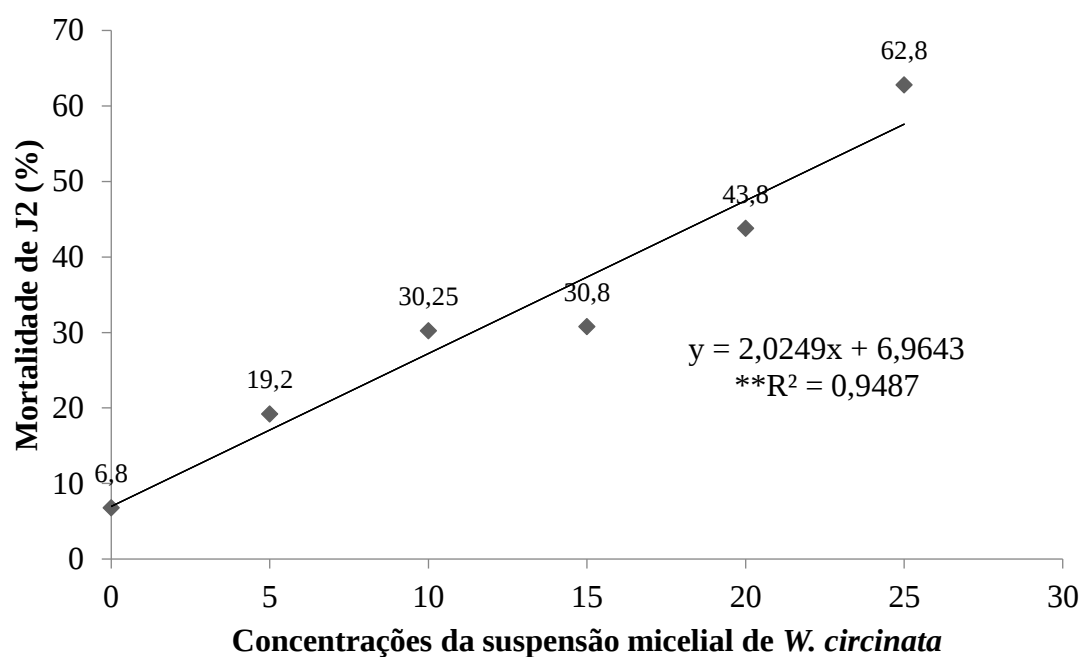


Fig 1 Mortalidade de J2 de *M. javanica* em diferentes concentrações da suspensão micelial de *Waitea circinata* En07. Média de três ensaios. Goiânia, 2017

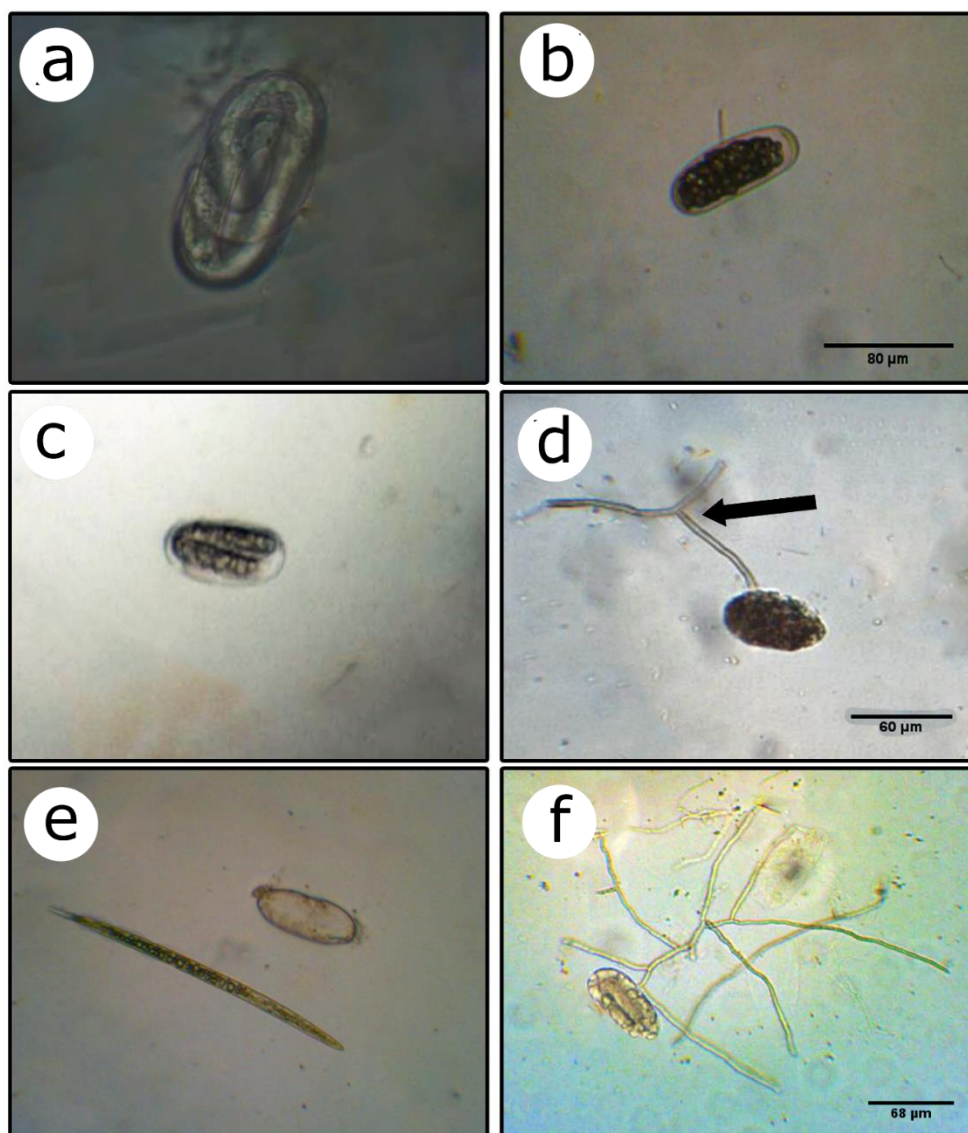


Fig 1 Parasitismo de ovos de *Meloidogyne javanica* por hifas de *Waitea circinata*. A, C e E: tratamento controle com desenvolvimento normal do ovo e eclosão do J2; B, D e F: ovos parasitados e presença de hifas de *W. circinata*.

Tabela 1 Eclosão de J2 de *M. javanica* submetidos à suspensão micelial de *W. circinata* e parasitismo de ovos de *M. javanica* por micélio de *W. circinata*. Goiânia, 2017

	Eclosão de J2 (%)	Ovos parasitados (%)
Testemunha	80	0
<i>W. circinata</i> En07	11	13

CAPÍTULO 2

EFEITO DA SUSPENSÃO MICELIAL DO FUNGO MICORRÍZICO DE ORQUÍDEA DO CERRADO BRASILEIRO NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM PLANTAS DE TOMATE E AVALIAÇÃO DE CARACTERES AGRONÔMICOS

Bruno Leonardo Mendes²; Leila Garcês de Araújo³; Mara Rúbia da Rocha⁴; Kellen
Cristhina Inácio Sousa⁵; Matheus Pereira Lima Costa⁴

¹ Capítulo elaborado conforme as normas do periódico científico Mycorrhiza

² Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

³ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

⁴ Escola de Agronomia – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

⁵ Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

EFEITO DA SUSPENSÃO MICELIAL DE UM FUNGO MICORRÍZICO DE ORQUÍDEA DO CERRADO BRASILEIRO NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM PLANTAS DE TOMATE E AVALIAÇÃO DE CARACTERES AGRONÔMICOS

Bruno Leonardo Mendes¹; Leila Garcês de Araújo²; Mara Rúbia da Rocha³; Kellen Cristhina Inácio Sousa⁴; Matheus Pereira Lima Costa³

¹ Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

² Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

³ Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil

⁴ Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

B. L. Mendes
+55 62 9 8186 3623
bleomendes@gmail.com

Resumo

O nematoide das galhas *Meloidogyne javanica* é o principal fitonematoide na cultura do tomate, pois é um fitopatógeno altamente virulento, cosmopolita e causa inúmeros prejuízos aos produtores rurais em todo o mundo. O controle sintético é caro e prejudicial ao meio ambiente, portanto é interessante introduzir técnicas sustentáveis de controle ao manejo integrado de fitonematoides, como o controle biológico. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de concentrações (5 g, 10 g, 15 g, 20 g e 25 g de micélio por litro de água) da suspensão micelial do Fungo Micorrízico Orquidoide (FMO) *Waitea circinata* no Fator de Reprodução (FR) e Densidade Populacional (DP) de *Meloidogyne javanica* e o efeito dessas concentrações nos caracteres agronômicos comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa fresca de raiz (MFR) na presença do patógeno. Para o FR e DP a concentração de 25 g/L de água destacou-se reduzindo a multiplicação de *M. javanica* em 30% (FR) e 90% (DP). No controle o FR e a DP foram de 5,83 e 3374 nematoides/g de raiz, respectivamente. Os caracteres agronômicos CPA, CR e MFR avaliados na presença do patógeno, ajustaram-se para regressão quadrática e tiveram o mesmo comportamento. A análise de componentes principais (PCA) corroborou com as regressões, explicando 71,05% da variabilidade dos dados, com o componente 1 e 2 explicando 47,16% e 23,89%, respectivamente. Este é o primeiro relato de um FMO com características nematicidas, onde a suspensão foi capaz de reduzir a multiplicação de *M. javanica*, portanto, o fungo *Waitea circinata* mostrou ser promissor no controle biológico deste fitopatógeno.

Palavras-chave: controle biológico; nematoide; nematoide das galhas; fungo antagonista

3.1 INTRODUÇÃO

A cultura do tomate ocupou no Brasil, no ano de 2017, uma área de 64,7 mil hectares com produção total de 4,4 milhões de toneladas. O estado de Goiás possui a maior área produtiva do Brasil com 15,7 mil hectares e a maior produção de 1,3 milhões de toneladas (IBGE, 2018). Apesar de áreas extensas de cultivo e alta produção, o tomateiro está sujeito a infecção de várias doenças e pragas, necessitando da aplicação de agrotóxicos aumentando o custo de produção. Na safra de 2017, o gasto médio com manejo fitossanitário no estado de Goiás, foi de R\$ 3.142,53 por hectare (FAEG, 2017).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* Goeldi (1887), popularmente conhecidos como nematoide-das-galhas, são os organismos mais evoluídos que parasitam o sistema radicular das plantas e limitam a produção agrícola por conta da alta capacidade de adaptação e polifagia (Lordello, 1992; Tihohod, 1993; Freitas et al., 2004). A principal espécie de nematoide que parasita a cultura do tomate é *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood (1949), devido a sua ampla disseminação nas áreas produtivas desta cultura e alto grau de virulência (Pinheiro et al., 2014).

O controle químico, físico e cultural são estratégias no manejo integrado de controle de fitonematoides que agem diminuindo a multiplicação deste fitopatógeno. O tomate é consumido em sua maioria na forma *in natura* e somente o uso de nematicidas sintéticos que são tóxicos ao meio ambiente, à saúde humana e aos microrganismos benéficos não é uma interessante estratégia de produção, por isso torna-se necessária a busca pelo manejo sustentável como o controle biológico (Agrios, 2005).

O biocontrole de nematoides é realizado pelo uso microrganismos antagonistas com diferentes modos de ação, como produção de metabólitos secundários e enzimas,

competição por espaço e nutrientes, parasitismo de ovos e/ou juvenis de segundo estágio (J2), indução de mudanças bioquímicas na rizosfera e indução de resistência na planta hospedeira. Essas características são encontradas em microrganismos que já são utilizados no manejo de fitonematoides, como os fungos *Purpureocillium lilacinum*, *Trichoderma harzianum*, *Pochonia chlamydosporia*, a rizobactéria *Bacillus subtilis* e Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) do gênero *Glomus* sp. (Khan et al., 2004; Castillo et al., 2006; Sharon et al., 2007; Naserinasab et al., 2011; Escudero e Lopez-Llorca, 2012; Nirajan e Sahoo, 2017; Vieira dos Santos et al., 2017; Fawzia et al., 2018; Jiménez-Moreno et al., 2018).

Fungos Micorrízicos Orquidoides (FMOs) também são utilizados no biocontrole de patógenos de plantas. O FMO *Waitea circinata* foi isolado da orquídea rupícola do cerrado brasileiro *Epidendrum nocturnum* (Sousa, 2012; Silva et al., 2016) e agiu diretamente no controle da brusone foliar do arroz (*Oryza sativa* L.) reduzindo a AACPD em 25% (Carvalho et al., 2015).

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram 1) avaliar o efeito de concentrações da suspensão micelial de *W. circinata* no Fator de Reprodução e Densidade Populacional de *Meloidogyne javanica* em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada e 2) avaliar o efeito de concentrações da suspensão micelial de *W. circinata* em caracteres agrônômicos de plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em condições de laboratório e casa de vegetação nas coordenadas geográficas Latitude: 16° 40' 48" Sul, Longitude 49° 15' 18" Oeste, altitude de 760 m, clima tropical com estação seca (Classificação climática de Köppen-Geiger: Aw). Foi utilizada a cultivar de tomate Santa Cruz Kada, suscetível à

Meloidogyne javanica. Foram conduzidos dois ensaios para avaliar o efeito de concentrações da suspensão micelial de *W. circinata* no Fator de Reprodução (FR) e Densidade Populacional (DP) de *M. javanica* e dois ensaios para avaliar o efeito da suspensão micelial do FMO nos caracteres agronômicos comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa fresca de raiz (MFR) de plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada.

3.2.1 Cultivo e preparo da suspensão de *W. circinata*

O fungo *W. circinata* foi isolado a partir de raízes da orquídea do cerrado brasileiro, *Epidendrum nocturnum* e recebeu o código BRM 32644 (Silva et al., 2016; Carvalho et al., 2015). O FMO foi crescido em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada). Após o crescimento por oito dias, o micélio foi raspado com auxílio de uma lâmina de bisturi e armazenado em um frasco de vidro autoclavado. As concentrações foram de 5 g, 10 g, 15 g, 20 g e 25 g de micélio por litro de água destilada autoclavada. Para o preparo da suspensão o micélio raspado e pesado de acordo com a concentração foi colocado em Erlenmeyers com água destilada autoclavada e mantido sob agitação constante de 140 rpm por 24 horas. Após o período de agitação, a suspensão foi filtrada em peneira de malha 500 mesh esterilizada e mantida em béqueres autoclavados até o momento da realização do experimento.

3.2.2 Patogenicidade do micélio de *Waitea circinata*

Folhas de tomateiro foram esterilizadas por um minuto em solução de álcool 70%, dois minutos em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% e, então, lavadas três vezes com água

destilada autoclavada. Após a lavagem, as folhas foram dispostas em placas de Petri com papel filtro, colocando uma folha de tomateiro por placa. Dois discos de micélio de *W. circinata* com aproximadamente 8 mm de diâmetro foram dispostos na parte adaxial das folhas de tomateiro. Foram utilizados dois controles, positivo e negativo. O controle positivo consistiu de discos de micélio do fungo *Rhizoctonia solani* isolado de tomateiro infectado e o controle negativo consistiu de discos de ágar-ágar sem o fungo. As placas foram colocadas em temperatura de 25 ± 30 °C no laboratório até o momento em que as folhas de tomate inoculadas com *R. solani* apresentassem sintomas.

3.2.3 Patogenicidade da suspensão micelial de *Waitea circinata*

As raízes das mudas das plantas de tomate com 35 dias após a semeadura foram mergulhadas em béqueres contendo a suspensão micelial de *W. circinata* nas concentrações de 5 g, 10 g, 15 g, 20 g e 25 g de micélio por litro de água destilada autoclavada. O controle consistiu em um béquer contendo água destilada autoclavada. As mudas permaneceram em temperatura ambiente (20° a 27° C) no laboratório durante sete dias.

3.2.4 Multiplicação de inóculo e extração de *Meloidogyne javanica*

O inóculo de *M. javanica* foi multiplicado em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada Gigante, sob condições de casa de vegetação. Para a extração dos ovos e juvenis de segundo estágio (J2), utilizou-se a metodologia de Hussey & Barker (1973). As raízes das plantas foram lavadas, cortadas em fragmentos de aproximadamente dois centímetros e trituradas em liquidificador em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 30 segundos. A suspensão obtida foi vertida em peneiras de 100 e 500 mesh. O material retido na peneira de

500 mesh foi lavado sob torneira para retirar o hipoclorito de sódio e, em seguida, recolhido em um Erlenmeyer. A espécie *Meloidogyne javanica* foi confirmada a partir do padrão perineal das fêmeas e a partir do fenótipo isoenzimático da esterase.

3.2.5 Efeito da suspensão micelial de *Waitea circinata* na redução populacional de *M. javanica* e nos caracteres agronômicos de tomateiro

Foram conduzidos dois experimentos em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e nove repetições. Os tratamentos consistiram nas concentrações de 5 g, 10 g, 15 g, 20 g e 25 g de micélio fúngico por litro de água destilada autoclavada. O tratamento controle consistiu em água destilada autoclavada.

As mudas de tomate foram transplantadas com 35 dias após a semeadura para vasos com volume total de 0,5 Litro, contendo substrato autoclavado composto da mistura de solo e areia na proporção 1:1. Uma muda foi transplantada em casa vaso. Os vasos ficaram dispostos em casa de vegetação aclimatando por um período de sete dias e, em seguida, foi realizada a inoculação artificial de 2500 ovos+J2. Em seguida, foi regado 10 mL de cada concentração da suspensão micelial de *W. circinata* foram regados no substrato de cada vaso. No tratamento controle utilizou-se água destilada autoclavada. O número de nematoides presentes nas raízes foram contados 40 dias após a inoculação com auxílio de uma câmara de Peters sob microscópio óptico (aumento de 40 x) para a determinação do Fator de Reprodução e densidade populacional.

O Fator de Reprodução (FR) foi determinado conforme metodologia proposta por Oostenbrink (1966), por meio do quociente entre a população final (contada) e a população inicial (inoculada) do nematoide: $FR = \text{população final} \div \text{população inicial}$, onde

FR < 1 indica que o nematoide não se multiplicou; FR > 1 indica que houve multiplicação do nematoide. A densidade populacional de nematoides foi calculada dividindo o número total de nematoides pela massa fresca de raiz e foi expressa em “nematoide/g de raiz”.

Nos dois experimentos foi avaliado o efeito das concentrações da suspensão micelial de *W. circinata* no comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa fresca de raiz (MFR) 40 dias após a inoculação. O CPA foi medido com o auxílio de uma fita métrica da base do caule até a última folha e os dados foram tabulados em centímetros (cm); o CR foi medido com auxílio de uma régua milimetrada desde o início do sistema radicular até a ponta da raiz e os dados foram tabulados em centímetros (cm); a MFR foi aferida com o auxílio de uma balança analítica e os dados foram tabulados em gramas (g).

3.2.6 Análise estatística

Os experimentos foram realizados duas vezes e as médias dos experimentos foram utilizadas para a análise de variância. Os dados foram submetidos a teste F e, observada diferença estatística, foi feita a análise de regressão com auxílio do *software* estatístico R[®] versão 3.4.3, R Core Team (2018) e Excel 2017[®].

A associação entre as concentrações da suspensão micelial de *W. circinata*, caracteres agrônômicos (CPA, CR, MFR), Fator de Reprodução e Densidade Populacional foi feita por análise de componentes principais (PCA) usando o *software* estatístico PAST (Hammer, Harper, & Ryan, 2001).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Patogenicidade do micélio e da suspensão micelial de *Waitea circinata*

O micélio do FMO *W. circinata* não é patogênico às plantas de tomate. As folhas com micélio do FMO não apresentaram sintomas, enquanto as folhas com discos de micélio de *R. solani* estavam parasitadas três dias após a avaliação. A suspensão micelial do FMO também não foi patogênica às plantas de tomate. As mudas mergulhadas nas suspensões formaram mais raízes secundárias e permaneceram vivas durante os sete dias da avaliação do ensaio (Figura 1). Por outro lado, no tratamento controle as mudas perderam as folhas e morreram quatro dias após a instalação do ensaio.

3.3.2 Efeito da suspensão micelial de *Waitea circinata* no Fator de Reprodução e Densidade Populacional de *Meloidogyne javanica* em tomateiro

O FR de *M. javanica* diminuiu à medida que a concentração da suspensão micelial de *W. circinata* foi aumentada, com regressão linear negativa e significativa ($p < 0,05$) (Figura 2). As concentrações de 20 e 25 g de micélio/L de água controlaram a multiplicação do nematoide, com valores de FR de 0,99 e 0,70, respectivamente.

A DP de *M. javanica* foi reduzida à medida que aumentou a concentração micelial de *W. circinata*, com regressão linear negativa e significativa ($p < 0,05$). No tratamento controle (água) a densidade populacional foi de 3374 nematoides/g de raiz e a concentração de 25 g de micélio/L de água reduziu a densidade populacional para 311 nematoides/g de raiz (Figura 3).

3.3.3 Efeito da suspensão micelial de *Waitea circinata* em caracteres agronômicos de tomateiro durante interação com o patógeno

Os caracteres agronômicos CPA, CR e MFR foram crescentes até a concentração de 15 g de micélio/L de água, e em seguida decresceram. Nesta concentração a média de CPA, CR e MFR foi de 70 cm, CR foi de 29,11 cm e MFR foi de 6,55 g, respectivamente. Todos os caracteres agronômicos evidenciaram regressão quadrática significativa ($p < 0,05$) (Figura 4).

3.3.4 Análise de correlação

A análise de componentes principais (PCA) realizada com os dados de comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa fresca de raiz, fator de reprodução e densidade populacional explicou 71,05% da variabilidade total dos dados. O primeiro componente explicou 47,16% e o segundo componente 23,89% (Figura 5).

O Fator de Reprodução e a Densidade Populacional foram correlacionados com o tratamento controle (água destilada autoclavada). O comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e massa fresca de raiz foram correlacionados com o tratamento de 15 g/L da suspensão micelial de *W. circinata*. O FR e DP foram inversamente correlacionados com as concentrações de 20 g e 25 g/L da suspensão micelial de *W. circinata*. CR, MFR e CPA foram inversamente correlacionados com o tratamento controle e com as concentrações de 20 g/L e 25 g/L da suspensão micelial do FMO (Figura 5).

3.4 DISCUSSÃO

O disco de micélio e as suspensões micelial de *W. circinata* não mostraram sintomas de patogenicidade (Figura 1). Carvalho et al., (2015) verificaram que *W. circinata* não foi patogênico à planta de arroz.

As concentrações de 20 g e 25 g/L da suspensão micelial de *W. circinata* controlaram a multiplicação de *M. javanica* e reduziram a densidade populacional em plantas de tomate. Contudo, a concentração de 25 g foi mais efetiva, pois controlou a reprodução do nematoide em aproximadamente 30% (Figura 2). Sabe-se que agentes de biocontrole impedem a multiplicação do nematoide por meio de processos físicos, químicos e indução de resistência. O FMO agiu diretamente sobre *M. javanica* em tomateiro porque pode ter produzido as enzimas protease, quitinase e glucanase, como verificado por Carvalho et al., (2015). Em outro trabalho, a suspensão micelial de *W. circinata* teve efeito direto na mortalidade de *M. javanica* em testes *in vitro*, onde a concentração de 25 g de micélio/L de água matou 62,8% de J2, corroborando os resultados do presente trabalho.

Altas taxas de controle de J2 não ocorrem com a presença da planta, porque fatores estão envolvidos na interação desses organismos, como a aplicação da suspensão no substrato com solo e areia, irrigações diárias, altas temperaturas da casa de vegetação, outros microrganismos que, posteriormente, vieram a colonizar o substrato, exsudatos liberados pelas raízes das plantas de tomate, etc. A mesma justificativa foi dada por Sousa (2015), que avaliou produtos comerciais para controle sintético e biológico de nematoides e observou que a maioria dos produtos não foram efetivos para impedir a multiplicação dos nematoides em plantas de tomate.

A DP também foi reduzida na concentração de 25 g/L da mesma forma que o FR, correlacionando negativamente (Figura 5). Estes resultados comprovam o modo de ação do FMO, pois provavelmente ocorre a liberação de enzimas conforme comprovado por Carvalho et al., (2015) no patossistema *M. oryzae* e arroz. A redução do FR e DP acontece também quando se utiliza outros agentes de biocontrole, como fungos do gênero *Trichoderma* sp. que possuem o mesmo modo de ação, produzem enzimas que degradam a

217 cutícula do ovo e J2, reduzindo assim a multiplicação do nematoide (Zangh et al., 2015;
218 Rajinikanth et al., 2016; Hofstätter et al., 2017).

219 A concentração de 15 g de micélio/L de água na presença de *M. javanica*,
220 promoveu aumento no comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e massa fresca de
221 raiz (Figura 4). Entretanto, neste experimento o volume de 0,5 L dos vasos onde as mudas
222 de tomate foram transplantadas, foi pequeno e pode ter sido um fator limitante ao
223 crescimento e desenvolvimento das raízes, pois quando as plantas foram retiradas para as
224 análises, as raízes estavam enoveladas. É possível que os caracteres agronômicos aferidos
225 poderiam continuar crescentes se o volume do vaso fosse maior e fornecesse mais espaço
226 para o desenvolvimento do sistema radicular. Sugere-se, para estudos posteriores visando
227 avaliar o efeito bioestimulante do FMO, o uso de vasos com volume maior.

228 O FMO *W. circinata* produziu 2,277 µg/mL de Ácido indolacético (AIA) *in vitro*
229 Carvalho et. al., (2016) e a suspensão deste fungo pode conter esse fitormônio, o que explica
230 os resultados promissores para os caracteres agronômicos avaliados, já que a baixa
231 concentração desse hormônio na planta já é suficiente para a realização de mudanças
232 fisiológicas, como crescimento de parte aérea, floração, enraizamento e amadurecimento de
233 frutos (Centellas et al., 1999). Os produtos a base de AIA sintético são caros e ter um agente
234 de biocontrole que produz este fitormônio é muito promissor para o manejo sustentável de
235 produção. São necessários outros estudos para a quantificação de AIA na planta de tomate
236 durante a interação com *M. javanica*.

237 Este é o primeiro relato em que um FMO possui características nematicidas,
238 onde a suspensão micelial foi capaz de reduzir o Fator de Reprodução, Densidade
239 Populacional e bioestimular o crescimento e enraizamento de plantas de tomate. Portanto, o
240 fungo *Waitea circinata* mostrou ser promissor no manejo de *Meloidogyne javanica*. É

241 necessário estudos posteriores visando avaliar outros métodos de aplicação da suspensão
242 micelial do FMO na cultura do tomate.

3.5 Referências Bibliográficas

AGRIOS, G.N. **Plant Phytopathology**. Fifth Edition. Elsevier Academic Press.USA. 922p., 2005

CAMPOS, V.P. **Danos e prejuízos causados por fitonematoides**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 16, n. 172, p. 14-15, 1992.

CARVALHO, J. C. B.; SOUSA, K. C. I.; BRITO, D. C.; CHAIBUB, A. A.; LUZINI, A. P.; CÔRTEZ, M. V. C. B.; FILIPPI, M. C. C.; KATO, L.; VAZ, B. G.; COSTA, H. B.; ROMÃO, W.; ARAÚJO, L. G. Biocontrol potential of *Waitea circinata*, an orchid mycorrhizal fungus, against the rice blast fungus. **Trop. plant pathol.** (2015) 40:151–159.

CENTELLAS, A. Q.; FORTES, G. R. L.; GHELLAR, N. T.; ZANOL, G. C.; FLORES, R.; GOTTINARI, R. A. EFEITO DE AUXINAS SINTÉTICAS NO ENRAIZAMENTO IN VITRO DA MACIEIRA. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.34, n.2, p.181-186, fev. 1999

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station, 1972, 77 p.

FAEG. **Estimativa de custo médio de produção de tomate no estado de Goiás**. 2017. Disponível em <http://cdn.sistemaafaeg.com.br/images/custo-de-producao/2016-novembro/estimativa_de_custo_de_producao_-_tomate_industria_nov16.pdf> Acesso em Jan. 2018.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV, 84p. 2004

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 0, p. 155-165, 2000.

HARAN, S., SCHICKLER, H.; CHET, I. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, v.142, p.2321-2331, 1996.

HUSSEY, R.S., McGUIRE, J.M. Interaction with other organisms. In: BROWN, R.H., KERRY, B.R. (ed). Principles and practice of nematode control in crops. Austrália: **Academic Press**, p. 300-28, 1987, 447 p.

HUSSEY, R.S., RONCADORI, R.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae mai limit nematode activity and improve plant growth. **Plant Disease**, Athens, v.66, n. 1, p. 9-14, 1982.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2018. Brasília-DF.

Disponível

em<[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201801.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201801.pdf)> Acesso em Jan. 2018.

Keel BG, Zettler LW, Kaplin BA (2011) Seed germination of *Habenaria repens* (Orchidaceae) in situ beyond its range, and its potential for assisted migration imposed by climate change. **Castanea** 76: 43–54.

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides de plantas cultivadas**. 9ª ed. São Paulo. Nobel. 1992. 356p.

OOSTENBRINK, M. Major characteristic of relation between nematodes and plants. **Mededelingen Landbouwhogeschool**, Wageningen, v. 66, n. 4, p.1-46, 1966.

PEROTTO, S.; RODDA, M.; BENETTI, A.; SILLO, F.; ERCOLE, E.; RODDA, M.; GIRLANDA, M.; MURAT, C.; BALESTRINI, R. Gene expression in mycorrhizal orchid protocorms suggests a friendly plant–fungus relationship. **Planta** (2014) 239:1337–1349

PINHEIRO, J.B.; BOITEUX, L.S.; PEREIRA, R.B.; ALMEIDA, M.R.A.; CARNEIRO, R.M.D.G. **Identificação de espécies de Meloidogyne em tomateiro no Brasil**. Embrapa, Brasília, 16p., 2014. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

RASMUSSEN, H. N. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. **Plant and Soil** 244: 149–163, 2002.

RASMUSSEN, H. N.; RASMUSSEN, F. N. 'Trophic relationships in orchid mycorrhiza - diversity and implications for conservation.' **Lankesteriana**, vol 7, no. 1-2, pp. 334-341.

SCHERER, A.; MACHINESKI, O.; KRYZANOWSKI, A. A.; UBUKATA, I. F.; BALOTA, E. L. EFEITO DE FUNGOS MICORRÍZICOS E NEMATÓFAGOS NO BIOCONTROLE DE NEMATÓIDES E NA NUTRIÇÃO FOSFATADA DO CAFEEIRO. In: VII Simpósio de Pesquisa de Cafés do Brasil. 2011, Araxá. **Resumos...** Araxá, 2011.

SCHOUTEDEN N, De WAELE D, PANIS B, VOS CM. Arbuscular Mycorrhizal Fungi for the Biocontrol of Plant-Parasitic Nematodes: A Review of the Mechanisms Involved. **Frontiers in Microbiology**. 2015;6:1280.

SOUSA, K. C. I. **Caracterização morfológica de fungos para a germinação *in vitro* de sementes de *Cyrtopodium saintlegerianun* Rchb. f. E *Epidendrum nocturnum* Jacq. (ORCHIDACEAE), ocorrentes no cerrado**. 2012. 125 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372p.

Figuras

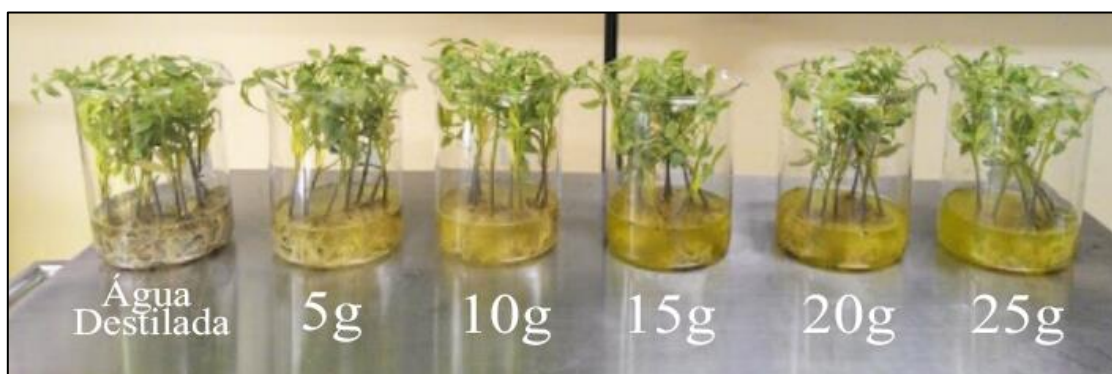


Fig. 1 Teste de patogenicidade das concentrações da suspensão micelial de *Waitea circinata* em mudas de tomateiro cv. Santa Cruz Kada. Goiânia, 2018

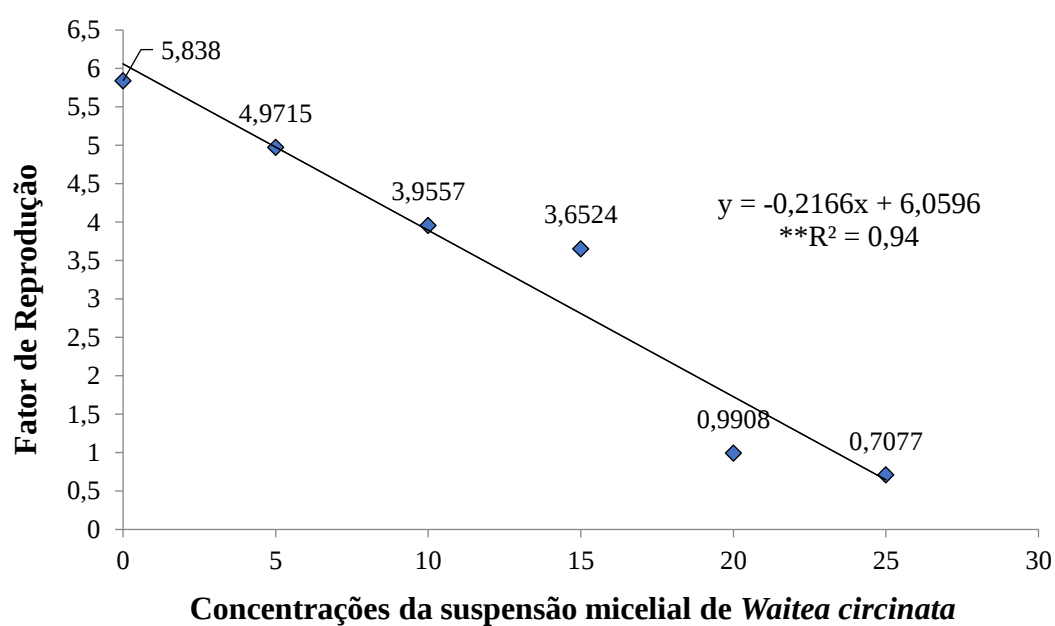


Fig. 2 Fator de reprodução de *Meloidogyne javanica* em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada, em diferentes concentrações da suspensão micelial de *Waitea circinata*. Média de dois ensaios. Cada ponto foi obtido de 324 observações. Goiânia, 2018.

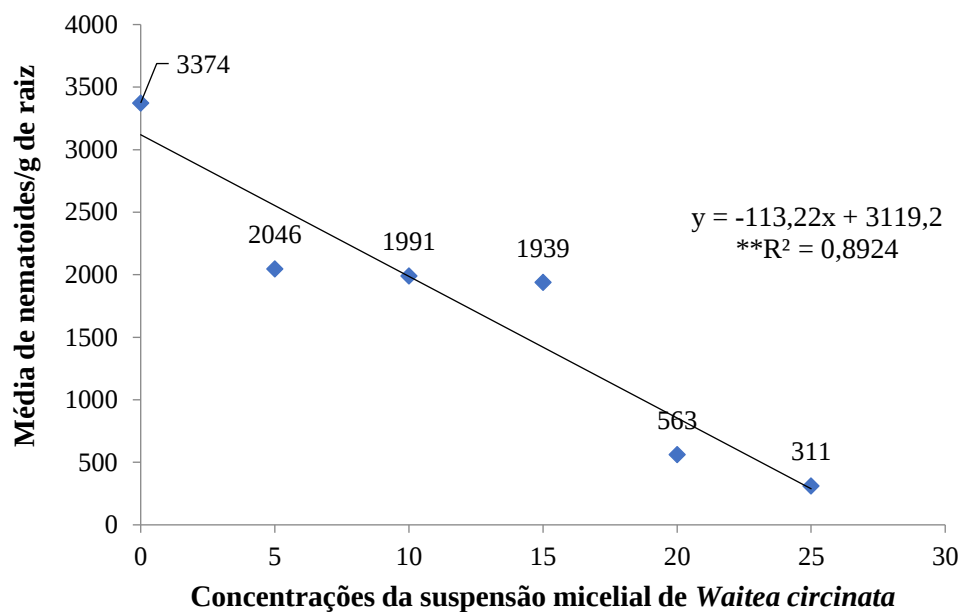


Figura 3 Densidade populacional de *Meloidogyne javanica* em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada, nas concentrações da suspensão micelial de *Waitea circinata*. Média de dois ensaios. Cada ponto foi obtido de 324 observações. Goiânia, 2018.

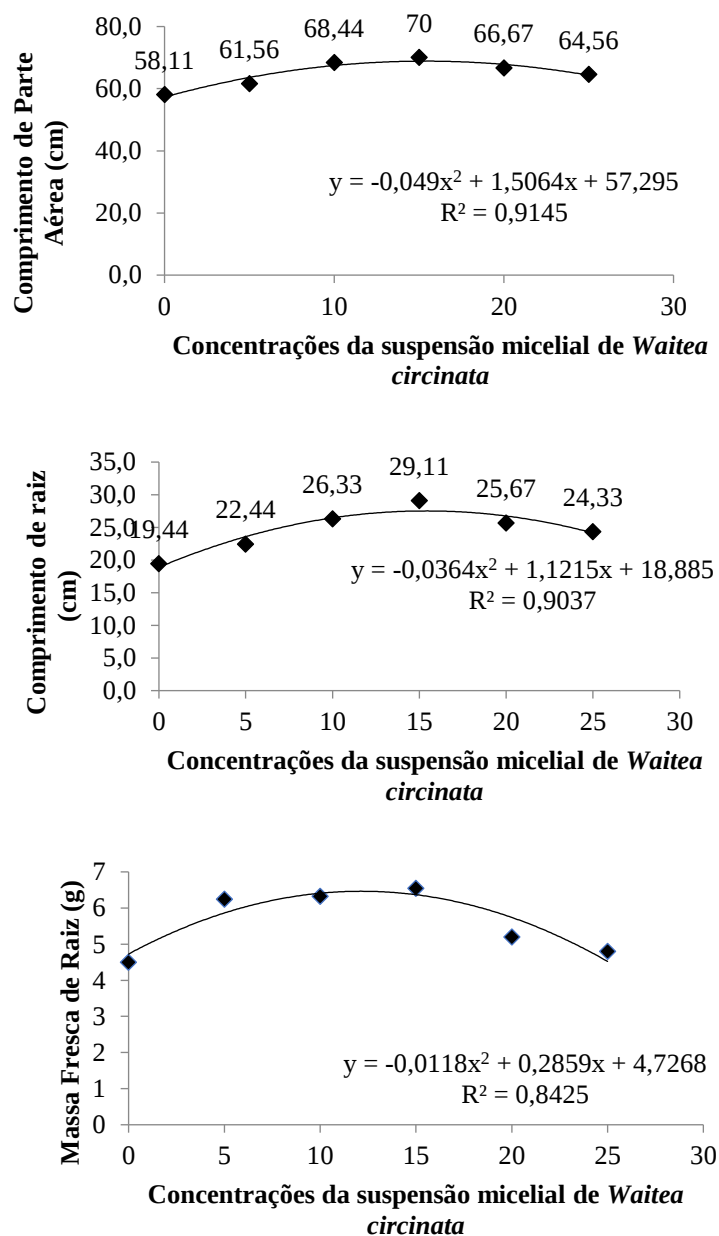


Figura 4 Efeito das concentrações da suspensão micelial de *Waitea circinata* no comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e massa fresca de raiz. Goiânia, 2018.

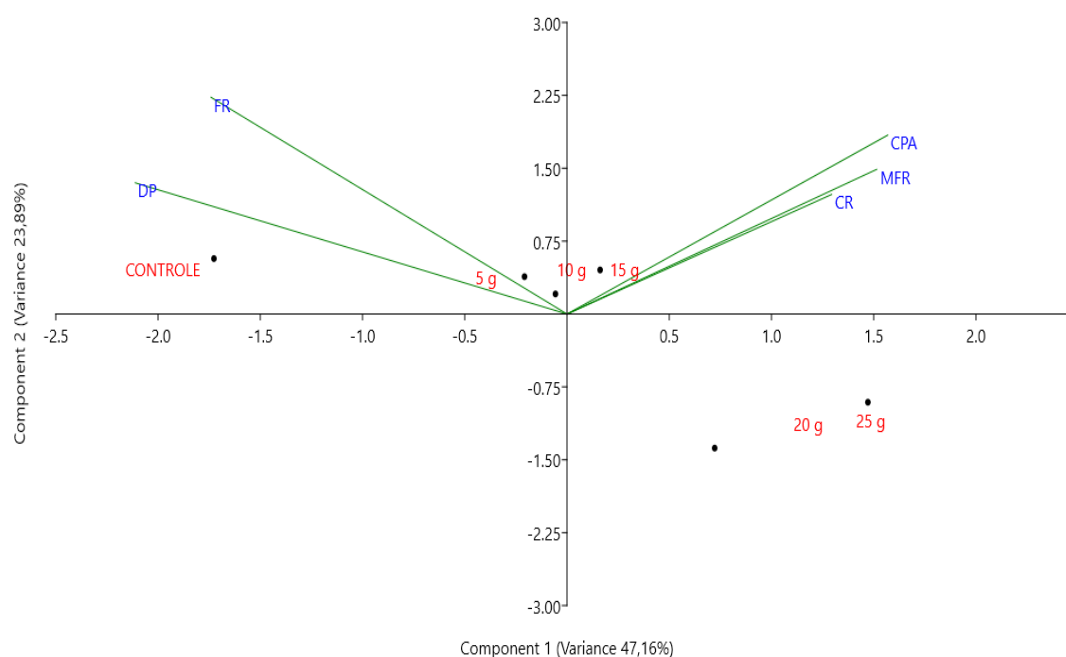


Figura 5 Análise de componentes principais: correlação entre concentrações da suspensão micelial de *Waitea circinata* (5 g, 10 g, 15 g, 20 g, 25 g de micélio/L de água), caracteres agrônômicos (comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa fresca de raiz (MFR)) e controle de *Meloidogyne javanica* (fator de reprodução (FR) e densidade populacional (DP) em plantas de tomate cv. Santa Cruz Kada). Goiânia, 2018.