

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE - UNICENTRO-PR

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS E
SUBSTRATO EXAURIDO DE *Agaricus bisporus* NO
CONTROLE DE *Meloidogyne javanica***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FELIPE ANDRES SALINAS VASQUEZ

GUARAPUAVA-PR

2018

FELIPE ANDRES SALINAS VASQUEZ

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS E
SUBSTRATO EXAURIDO DE *Agaricus bisporus* NO
CONTROLE DE *Meloidogyne javanica***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Mestrado, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof(a). Dra. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria
Orientadora

Prof. Dr. German Fernandel Sepulveda Chavera
Co-orientador

GUARAPUAVA-PR

2018

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Santa Cruz

S165o Salinas Vasquez, Felipe Andres
Óleos essenciais de plantas aromáticas e substrato exaurido de *Agaricus bisporus* no controle de *Meloidogyne javanica* / Felipe Andres Salinas Vasquez. -- Guarapuava, 2018.
xiii, 65 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2018

Orientadora: Cacilda Márcia Duarte Rios Faria
Coorientador: German Fernandel Sepulveda Chavera
Banca examinadora: Cacilda Márcia Duarte Rios Faria, Leandro Alvarenga Santos, Cláudia Regina Dias Arieira, Debora Cristina Santiago

Bibliografia

1. Agronomia. 2. Produção vegetal. 3. *Pseudomonas frederiksbergensis*. 4. *Stenotrophomonas rhizophila*. 5. Nematóide de galha. 6. Pimpinela anisum. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

CDD 630

Felipe Andres Salinas Vasquez

ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS E SUBSTRATO EXAURIDO DE
Agaricus bisporus NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2018.



Prof^a. Dr^a. Cacilda Marcia Duarte Rios Faria
(UNICENTRO)



Prof^a. Dr^a. Claudia Regina Dias Arieira
(UEM)



Prof^a. Dr^a. Débora Cristina Santiago
(UEL)



Prof. Dr. Leandro Alvarenga Santos
(UNICENTRO)

GUARAPUAVA-PR

2018

A meus pais e minha companheira de vida

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, que sem Ele nada disto teria sido possível, é Ele quem preenche meu coração de força para lutar por meus sonhos, tranquilidade para superar os obstáculos e nos preencher de amor que é o motor mais poderoso, que movimenta o mundo inteiro.

Também quero agradecer a meus pais, Maria Vasquez Cornejo e Pedro Salinas Fabres, principalmente minha mãe, por ensinar-me que não há impossível, por me dar o melhor para minha vida, mostrando-me o caminho certo e ensinando-me a nunca desistir de meus sonhos.

Agradeço também a quem fez de minha estadia no Brasil, sentir-se como se estivesse em casa, que sempre deu seu apoio incondicional, uma amiga, uma confidente e sobre todo, minha companheira de vida, Romina Soto Flores.

A minha orientadora, Cacilda Marcia Duarte Rios Faria, por sua compreensão, pela sua confiança, paciência e ajuda nesta etapa da minha vida, como também a meu co-orientador, German Sepulveda Chavera, por acreditar em mim e me incentivar a continuar.

Agradeço também à Carla Daiane Leite pela sua ajuda, sua disposição e ensinamentos, assim como agradeço a todos os que colaboraram com um grão de areia para construir este castelo, do mesmo jeito que fez Aline Maia.

A o professor Paulo e a técnica do laboratório Claudia, ambos do Laboratório de Biologia-UNICENTRO, a Christiane do Laboratório de Química-UNICENTRO, a Ana da colônia Vitoria, Virleene Amaral de UEM e todos aqueles que me ajudaram de alguma forma.

Por fim, agradeço ao programa de pós-graduação estrangeiro OEA-COIMBRA e a bolsa CAPES, por brindar-me a oportunidade de continuar aprendendo fora do meu país e conhecer outras costumes e culturas e ao programa de pós-graduação em Agronomia - UNICENTRO, por receber-me.

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo geral.....	2
2.2. Objetivos específicos.....	2
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
3.1. Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	3
3.1.1. Principais patógenos.....	3
3.1.2. Fitonematoides.....	4
3.1.3. Principais gêneros na cultura do tomateiro.....	4
3.1.4. <i>Meloidogyne</i> spp.....	4
3.2. Controle de fitonematoides.....	6
3.2.1 Controle químico.....	6
3.2.2. Controle biológico.....	6
3.2.3. Controle cultural.....	8
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1. Local do experimento.....	15
4.2. Obtenção e manutenção do inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i>	15
4.3. Ensaio com óleos essenciais de plantas medicinais.....	15
4.3.1. Obtenção e análise cromatográfica dos óleos essenciais de plantas aromáticas.....	15
4.3.2. Avaliação da eclosão.....	15
4.3.3. Avaliação de mortalidade/mobilidade de J ₂	16
4.3.4. Ação dos óleos essenciais no controle de <i>M. javanica</i> em tomateiro.....	16
4.4. Ensaio com substrato exaurido de <i>Agaricus bisporus</i>	17
4.4.1. Obtenção do substrato exaurido de <i>Agaricus bisporus</i>	17
4.4.2. Isolamento e identificação de microrganismos do substrato exaurido.....	17
4.4.4. Avaliação de compostos voláteis de substrato exaurido de <i>A. bisporus</i> na eclosão de J ₂ de <i>M. javanica</i>	18
4.4.5. Ação do substrato exaurido de <i>A. bisporus</i> no controle de <i>M. javanica</i> em casa de vegetação.....	19
4.5. Análises estatísticas.....	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5.1. Resultados com óleos essenciais.....	20
5.1.1. cromatografia dos óleos essenciais.....	20
5.1.2. Eclosão e mobilidade de J ₂ de <i>M. javanica</i>	21
5.1.4. Resultados em casa de vegetação.....	24
5.2. Resultados com substrato exaurido de <i>A. bisporus</i>	26
5.2.1. Análise química e microrganismos isolados do substrato exaurido de <i>A. bisporus</i>	26
5.2.2. Eclosão com substrato exaurido de <i>A. bisporus</i>	27
5.2.2. Substrato exaurido em casa de vegetação.....	28
6. CONCLUSÕES.....	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Compostos identificados no óleo essencial de orégano, eucalipto e anis mediante cromatografia gaseosa.....	20
Tabela 2: Eclosão e mobilidade dos J_2 <i>in vitro</i> de <i>M. javanica</i>	22
Tabela 3: Altura de planta, diâmetro de caule, massa fresca e seca da raiz, e massa fresca e seca da raiz de tomateiro cv. Santa Clara após 75 dias em casa de vegetação.....	24
Tabela 4: Numero de galhas e ovos por sistema radicular em tomateiro cv. Santa Clara, após 75 dias em casa de vegetação.....	25
Tabela 5: Micro e macro nutrientes quantificados no solo e substrato exaurido.....	26
Tabela 6: Altura de planta, diâmetro de caule, massa fresca e massa seca da parte aérea de tomateiro cv. Santa Clara, após 75 dias em casa de vegetação.....	29
Tabela 7: Massa fresca e massa seca da raiz, número de galhas e numero de ovos de raízes de tomateiro cv. Santa Clara após 75 dias em casa de vegetação.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ecloração dos J ₂ de <i>M. javanica</i> após 15 dias em escuro a 25 °C, em placas bipartidas contendo relações solo:substrato exaurido de <i>A. bisporus</i>	29
---	----

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

<i>cv.</i>	Cultivar
<i>PSF</i>	<i>Pseudomonas frederikksbergensis</i>
<i>STR</i>	<i>Stenotrophomonas rizophila</i>
<i>UFC</i>	Unidades formadoras de colônia
<i>FSE</i>	Filtrado de substrato exaurido
<i>p:v</i>	Peso:volume
<i>v:v</i>	Volume:volume
<i>DNA</i>	Ácido desoxirribunucleico
<i>FAOSTAT</i>	Base de dados estatísticos da Organização de Alimentos e Agricultura dos Estados Unidos
<i>IBGE</i>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<i>ha⁻¹</i>	Hectare
<i>Kg</i>	Quilograma
<i>mg L⁻¹</i>	Miligrama por litro
<i>μL L⁻¹</i>	Microlitro por litro
<i>μg mL⁻¹</i>	Micrograma por mililitro
<i>EDTA</i>	Ácido etilendiaminotetraacético
<i>NCBI</i>	National Center Biotechnology Information
<i>J₂</i>	Juvenis de segundo estágio

RESUMO

Felipe Andrés Salinas Vasquez. Óleos essenciais de plantas medicinais e substrato exaurido de *Agaricus bisporus* no controle de *Meloidogyne javanica*

Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne* apresentam grande importância agrícola, pois podem diminuir de 30 a 50% da produtividade em ampla gama de hospedeiros. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), anis (*Pimpinella anisum*) e o substrato exaurido de cogumelo, *Agaricus bisporus*, no controle *in vitro* e em casa de vegetação, da população de *Meloidogyne javanica* em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara. Para verificação do efeito *in vitro*, depositou-se 1 mL de suspensão contendo 100 ovos de *M. javanica* para eclosão e 50 J₂ para mobilidade, em tubos de vidro com 1 mL dos tratamentos (óleo essencial de orégano, anis e eucalipto na concentração de 0,3%), abamectina (Vertimec[®], 2,5 mL L⁻¹), testemunha (água), *Paecilomyces lilacinus* (Nemat[®], 3 g L⁻¹), bactérias *Pseudomonas frederiksbergensis* (PSF) e *Stenotrophomonas rizophila* (STR) (1x10⁸ UFC) e filtrado do substrato exaurido (FSE) 1:5 (p:v). Ambos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com nove tratamentos e cinco repetições. Para determinar a presença de substâncias voláteis no substrato exaurido de *Agaricus bisporus*, utilizaram-se placas bipartidas, e, de um lado da placa depositou-se 2 mL da suspensão contendo 100 ovos, e do outro lado substrato exaurido umedecido à capacidade de campo fechando-se a placa deixando-as no escuro a 25 °C por 15 dias. O experimento foi feito em DIC com quatro tratamentos, testemunha (água) e substrato exaurido:solo nas relações 1:1, 1:2, 1:3 (v:v) e cinco repetições. Os óleos essenciais foram submetidos à análise cromatográfica de gases e o substrato exaurido de *A. bisporus* foi submetido à análise química de micro e macronutrientes e isolamento de microrganismos. Deste substrato foram isoladas bactérias que foram identificadas pela análise de DNA. Em casa de vegetação inocularam-se as mudas de tomate de 20 dias com 5 mL de suspensão contendo 4000 ovos do nematoide. Após 24 horas da inoculação aplicaram-se os tratamentos, testemunha (água), óleo de orégano, anis e eucalipto na concentração de 0,3%, *P. lilacinus*, FSE e abamectina, mantendo os vasos umedecidos a capacidade de campo durante 75 dias. O óleo essencial de anis e o controle químico (abamectina) suprimiram em mais de 90% a população do nematoide, enquanto a testemunha e os demais óleos reduziram cerca de 50%. Os compostos majoritários identificados no óleo essencial de orégano foram thymol e cavracol, para o óleo essencial de

anis foi o estragol, e o composto majoritário para o óleo essencial de eucalipto foi o eucaliptol. O experimento em casa de vegetação com óleos essenciais foi realizado em delineamento em blocos casualizados (DBC,) com sete tratamentos e cinco repetições. Realizou-se um segundo experimento, misturando-se substrato exaurido de *Agaricus bisporus* com solo em três proporções 1:1, 1:2 e 1:3 (v:v). Após realizar a mistura, adicionou-se 5 mL de suspensão contendo 4000 ovos por vaso e deixou-os tampados com plástico preto por 15 dias em sala com ambiente controlado a 24° C. Finalizando os 15 dias foram destampados os vasos e transplantadas as mudas de tomateiro cv. Santa Cara com 20 dias de idade, mantendo os vasos umedecidos a capacidade de campo durante 75 dias. O experimento foi realizado em DBC com quatro tratamentos e cinco repetições. Todas as misturas com substrato exaurido diminuíram em mais de 90% a população de *M. javanica* e influenciaram positivamente no desenvolvimento das plantas de tomateiro, diferenciando-se estatisticamente da testemunha pelo teste de Scottt Knott a 95% de probabilidade.

Palavras-Chave: *Pseudomonas frederikksbergensis*, *Stenotrophomonas rhizophila*, nematoide de galha, *Pimpinella anisum*.

ABSTRAC

Felipe Andrés Salinas Vasquez. Essential oils of medicinal plants and depleted substrate of *Agaricus bisporus* in the control of *Meloidogyne javanica*.

The phytonematoids of the genus *Meloidogyne* present a great agricultural importance, because they decrease from 30 to 50% of the productivity of a wide range of hosts. The objective of this search was to evaluate the effect of the essential oils of oregano (*Origanum vulgare*), eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), aniseed (*Pimpinella anisum*) and depleted mushroom substrate, *Agaricus bisporus*, in the *vitro* and greenhouse control, in the population of *Meloidogyne javanica* in tomato plants (*Solanum lycopersicum*) cv. Saint Clara. To verify the *in vitro* effect, 1 mL of suspension containing 100 eggs of *M. javanica* to hatching and 50 J₂ to mobility were deposited in glass tubes with 1 mL of the treatments (oregano essential oil, anise and eucalyptus at a concentration of 0.3%), abamectina (Vertimec[®], 2,5 mL L⁻¹), evidence (water), *Paecilomyces lilacinus* (Nemat[®], 3g L⁻¹), Bacteria *Pseudomonas frederiksbergensis* (PSF) and *Stenotrophomonas rizophila* (STR) (1x10⁸ UFC) and filtrate of the depleted substrate (FSE) 1:5 (p:v). Both experiments were performed in a completely randomized design (DIC) with nine treatments and five replicates. To determine the presence of the volatile substances in the depleted substrate of *Agaricus bisporus*, two-part plates were used, on one side of the plate 2 ml of the suspension containing 100 eggs was deposited on the other side of the plate, wetted depleted substrate was deposited at the field capacity, and the plate was subsequently closed in the dark at 25 °C for 15 days. The experiment was done in DIC with four treatments, evidence (water) and depleted substrate: solo in relationships 1:1, 1:2, 1:3 (v:v) and five replications. The essential oils were submitted to gas chromatographic analysis and the depleted substrate of *A. bisporus* was subjected to chemical analysis of micro and macronutrients and isolation of microorganisms. From this substrate were isolated bacterias that were identified by DNA analysis. In greenhouse 20-day tomato seedlings were inoculated with 5 mL of suspension containing 4000 nematode eggs. After 24 hours of inoculation the treatments were applied, evidence (water), oregano oil, anise and eucalyptus in the concentration of 0,3%, *P. lilacinus*, FSE and abamectina, keeping the vessels moistened at field capacity for 75 days . The anise essential oil and chemical control (abamectina) suppressed the population by more than 90% while the control and other oils reduced by 50%. The experiment was carried out in a randomized complete block design (DBC) with seven treatments and five replications. A second experiment was performed by mixing the depleted substrate of *Agaricus bisporus* with soil in three proportions 1:1, 1:2 and 1:3 (v:v). After

mixing, 5 ml of suspension containing 4000 eggs per vessel was put and covered with black plastic for 15 days. At the end of the 15 days the pots were uncovered and transplanted the tomato seedlings cv. Santa Clara with 20 days of age, keeping the vessels moistened to field capacity for 75 days. The experiment was performed in DBC with four treatments and five replicates. All depleted substrate mixtures decreased more than 90% of the *M. javanica* population, differing statistically from the control by the Scottt Knott test at 95% reliability.

Key words: *Pseudomonas frederiksbergensis*, *Stenotrophomonas rhizophila*, root-knot nematode, *Pimpinella anisum*.

1. INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum*) está entre as olerícolas mais difundidas e cultivadas em todo o mundo. Estima-se que a produção desta planta é em torno de 170 milhões de toneladas, sendo que o Brasil tem participação de 2,5% dessa produção mundial (FAOSTAT, 2016).

A cultura do tomate desenvolve-se em diferentes climas e regiões, tropicais até temperadas. Independente do habitat esta cultura é afetada por várias doenças e pragas que diminuem o rendimento (NAZ et al., 2015). Neste contexto, destacam-se os fitonematoides que, segundo Kayani et al. (2013), são considerados entre os cinco principais patógenos de plantas, chegando a gerar perdas de até 16,9% da produção de tomateiro. Em locais tropicais e com solos arenosos, os nematoides podem causar reduções estimadas em aproximadamente 100 milhões de dólares por ano em todo o mundo (MUKHTAR et al., 2014).

Meloidogyne é o gênero de nematoide de maior importância para tomateiro, por ser o fitonematoide que gera mais prejuízos na cultura, formando galhas nas raízes das plantas as quais impedem o desenvolvimento vegetal, devido à obstrução dos feixes condutores, não permitindo a passagem de água e nutrientes, além de deixar feridas que são porta de entrada de outros patógenos (DJIAN et al., 2007), devido a esse fato adotam-se diversas estratégias para seu manejo. Em geral, o controle de nematoides é baseado no uso de produtos químicos, que podem gerar resistência, geralmente com custo elevado, gerando contaminação no ambiente, na água, no solo, aos animais e ao ecossistema quando aplicado no solo (MUKHTAR et al., 2014). Por isso, é de vital importância a pesquisa de novas ferramentas, sustentáveis e com mínimo risco para o produtor e consumidor final.

Como alternativas de manejo podem-se citar o biocontrole, o uso de biofumigação, rotação de culturas, culturas associadas (junto com culturas que possuem substâncias alelopáticas, como por exemplo, *Tagetes* sp.), variedades resistentes ou tolerantes, entre outras. Extratos vegetais ou óleos essenciais, também estão sendo utilizados com eficiência, além de apresentarem menor impacto ao meio ambiente e gerar mais segurança tanto para o consumidor quanto para o agricultor (FERRAZ; BROWN, 2016).

Na literatura, evidencia-se o efeito nematicida dos óleos de eucalipto, orégano, de pimento do reino, alecrim, gergelim, dentre outras diversas plantas que produzem metabólitos voláteis (FERRAZ et al., 2012).

Os óleos essenciais, a incorporação de matéria orgânica, o uso de composto, esterco,

húmus de minhoca e diversos outros resíduos podem ser fonte de nutrientes e microrganismos, que podem ter ação sobre patógenos presentes no solo, ajudando a manter o equilíbrio natural.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a ação dos óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*), eucalipto (*Eucalyptus globolus*), anis (*Pinpinella anisum*) e substrato exaurido de *Agaricus bisporus* no controle de *Meloidogyne javanica*.

2.2. Objetivos específicos

Verificar a ação dos óleos essenciais de orégano, eucalipto, anis e do substrato exaurido de *A. bisporus* na redução da população de *Meloidogyne javanica* em tomateiro cv. Santa Clara.

Avaliar se óleos essenciais e o substrato exaurido de *A. bisporus* interferem no desenvolvimento das plantas de tomateiro, cultivar Santa Clara, em casa de vegetação.

Quantificar os macro e micronutriente do substrato exaurido de *A. bisporus* e isolar e identificar os microrganismos presentes no substrato exaurido.

Identificar os compostos presentes nos óleos essenciais de orégano, eucalipto e anis e quais são os seus principais componentes.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

O tomate é originário dos Andes, sendo que, atualmente, é uma das culturas mais importantes no mundo e continua em expansão (CANTERO et al., 2016; FANELA et al., 2016; SHARMA; SHARMA, 2016; ZHOU et al., 2016; GERSZBERG et al., 2015). Os frutos de tomate são consumidos por serem ricos em carotenoides, minerais e antioxidantes, incluindo as vitaminas (GHORBANI et al., 2012; DORAIS et al., 2008). Pode atuar também como promotor de saúde, na prevenção de câncer e doenças cardiovasculares, na diminuição de radicais livres, entre outros efeitos, sendo um alimento totalmente funcional (GHORBANI et al., 2012).

Devido à domesticação, às atividades de pesquisa e seleção que foram implementadas pelos pesquisadores do mundo, as variedades de tomate modernos (em sua maioria híbridos) possuem várias formas, cores e tamanhos. Desde o século XX, os seres humanos vêm criando uma enorme variedade de diferentes cultivares e formas da única espécie *S. lycopersicum* por meio do melhoramento genético (BAI; LINDHOUT, 2007).

O tomate é uma das culturas mais difundidas e cultivadas do mundo, tendo produção mundial de 170 milhões de toneladas , sendo para consumo fresco 164 milhões de toneladas. O principal produtor é a Ásia, com produção de 101 milhões de toneladas o que representa 61,7% da produção total, no segundo lugar está a América que tem produção de 26 milhões de toneladas representando 16,3% do total e no Brasil são produzidos 4,3 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2016). O estado do Paraná tem produção média de 217 toneladas, das quais 1,687 correspondem à cidade de Guarapuava (IGBE, 2016).

3.1.1. Principais patógenos

Dentre os principais agentes de perdas na cultura do tomate encontram-se as pragas e as doenças, tendo destaque as doenças devido ao curto ciclo biológico que geram grandes perdas e prejuízos em pequeno período de tempo. As doenças que acometem a cultura de tomateiro, podem ser classificadas segundo o tipo de agente causal, assim temos: fungos (*Fusarium* sp, *Alternaria* sp., etc.), vírus (vírus do mosaico do tomateiro-ToMV), bactérias (*Ralstonia solanacearum*, *Pectobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., etc.) e nematoides

(*Meloidogyne* sp. e *Pratylenchus* sp.) (FERRAZ;BROWN, 2016).

3.1.2. Fitonematoides

Os fitonematoides causam doenças em diversas culturas, chegando a diminuir o rendimento das culturas em 30 a 50% (YANG et al., 2016; LIU et al., 2015). A média anual mundial em perdas geradas por nematoides é de cerca de 100 a 157 bilhões de dólares (DONG et al., 2016; NGALA et al., 2016; LOURENÇO-TESSUTTI et al., 2015; DEGENKOLB; VILCINSKAS, 2012).

Os danos que os nematoides causam nas plantas são variáveis dependendo da suscetibilidade da cultura atacada e do gênero do nematoide. Estes podem ser refletidos na parte aérea da planta, ocasionando redução de desenvolvimento, clorose e amarelecimento nas folhas ou até a morte da planta devido à diminuição da absorção de água e nutrientes (HERNANDEZ-OCHANDIA et al., 2012; FERRAZ et al., 2012).

3.1.3. Principais gêneros na cultura do tomateiro

Vários são os gêneros de nematoides que afetam as plantas, podendo classifica-los segundo seus hábitos, tendo nematoides ectoparasitos migratórios e ectoparasitos sedentários, dentre os migratórios temos os gêneros *Longidorus*, *Trichodorus*, *Paratrichodorus*, *Criconemella*, *Xiphinema*, *Paratylenchus* (PIEDRAHITA et al., 2012). Um segundo grupo de fitonematoides são os nematoides endoparasitos que por sua vez se classificam em endoparasitos migratórios e sedentários, assim o principal gênero de nematoide sedentário é *Meloidogyne*, e, para os nematoides migratórios o principal gênero é *Pratylenchus*. Em outra classificação são chamados de nematoides semi-endoparasitos migratórios e semi-endoparasitos sedentários, tendo como migratório o gênero *Helicotylenchus* e para os nematoides sedentários os principais gêneros são *Rotylenchulus* e *Tylenchulus* (PIEDRAHITA et al., 2012; SILVE et al., 2004).

O gênero *Meloidogyne* sp. é o de maior importância agrícola por sua ampla distribuição e por causar danos em um amplo grupo de culturas como: café, cana de açúcar, abacaxi, feijão, arroz, soja, banana, tomateiro, citros, algodão, côco, etc (FREITAS et al., 2014; DIEZ et al., 2010).

3.1.4. *Meloidogyne* spp.

O gênero *Meloidogyne* tem diversas espécies, sendo que as mais comuns e com importância agrícola são: *M. incognita*, *M. hapla*, *M. arenaria* e *M. javanica*. Sendo *M. javanica* a espécie de maior relevância no Brasil (FERRAZ et al., 2012). O gênero *Meloidogyne* pertence a Classe Cromadorea, Subclase Secernentia, Ordem Rabditida, Superfamília Tylenchoidea e Família Meloidogynidae (FERRAZ; BROWN, 2016). Esses nematoides são conhecidos como nematoides de galhas, pelos sintomas característicos de galhas, que formam no sistema radicular da planta hospedeira, ocasionando alterações nas células das raízes, devido às substâncias que injetam na planta, aumentando o tamanho da célula (hipertrofia). Ocorre também hiperplasia, isto é, o aumento da divisão celular e consequentemente do número de células, as quais originam as galhas (LIN et al., 2013; GUZMAN et al., 2012).

O ciclo biológico de *M. javanica* consiste de ovo, de quatro estádios juvenis (J₁ até J₄) e dos adultos machos (quando exposto a condições de estresse) e fêmeas (HERNANDEZ-OCHANDIA et al., 2012). Dos ovos presentes na massa de ovos na raiz, geralmente perto das galhas, eclodem os juvenis de segundo estágio (J₂), fase infectante da espécie. Este J₂ procura novas raízes para infectar e se hospedar no cilindro central das raízes para retirar o alimento e atingir o estágio adulto, já no estágio adulto de *M. javanica* a fêmea permanece no local de infecção até liberar os ovos perto das raízes, enquanto o macho, atingindo o estágio adulto, passa a ser de vida livre (FREITAS et al., 2014). Entre os fatores que afetam o desenvolvimento dos nematoides estão a temperatura e a umidade. Para o completo desenvolvimento dos nematoides a temperatura ótima fica entre 15-30 °C; menor que 15 °C e superiores de 30 °C podem induzir dormência e morte, com temperaturas muito baixas menores de 5 °C ou muito altas, maiores de 40 °C. Para *M. javanica* a temperatura ótima é de 25 °C e a temperatura mínima para sobrevivência está na faixa de 5-10 °C (FREITAS et al., 2014; HERNANDEZ-OCHANDIA et al., 2012).

A umidade é outro fator ambiental limitante no desenvolvimento dos nematoides. Para a locomoção no solo, os nematoides necessitam de filme de água, portanto, o melhor desenvolvimento ocorre em solos ligeiramente úmidos, com umidade inferior à capacidade de campo, em solos leves, ou seja, arenosos (FERRAZ; BROWN, 2016).

Os sintomas atribuídos a *M. javanica* são diversos, sendo o principal sintoma as galhas nas raízes das plantas, devido a injeção de substâncias nas células da planta produzindo aumento de tamanho celular, que dá origem às chamadas células gigantes. Além disso, como as galhas podem obstruir a passagem de água e nutrientes pelos feixes condutores, a planta pode apresentar murcha nas horas mais quentes do dia, redução de crescimento, cloroses e até

a morte (SILVA et al., 2004).

3.2. Controle de fitonematoides

O controle dos nematoides é de suma importância para ter o rendimento esperado de produção, pois sem controle podem diminuir até 50% da produção. Dentre os métodos de controle dos fitonematoides encontram-se diversas técnicas como controle químico, biológico, cultural e alternativo (FERRAZ; BROWN, 2016).

3.2.1 Controle químico

Na agricultura intensiva o uso de agroquímicos é cada dia maior. Dentre os diferentes produtos utilizados para controle de nematoides, os fumigantes são dos mais utilizados como metam sodio. Esses produtos são utilizados há mais de 50 anos, para esterilizar solo de nematoides, fungos e bactérias (MAO et al., 2016; CABONI et al., 2016; LEE et al., 2016).

Os carbamatos e organofosforados são os mais utilizados para o controle de nematoides (OKA et al., 2016; FORGE et al., 2016; SILVESTRE; CABARET, 2014). Um dos produtos químicos é a abamectina (Vertimec®) qual é uma molécula produzida pela bactéria *Streptomyces avermitilis* que vive no solo. A abamectina é geralmente utilizada via foliar para controle de insetos, mas na última década está incorporada no manejo de patógenos presentes no solo, incluindo nematoides (QIAO et al., 2012).

A abamectina é um metabólito macrocíclico lactonado, é insolúvel em água de natureza lipofílica, este composto tem um efeito inibitório em ampla gama de nematoides e seu sitio de ação é nas proteínas, inibindo o receptor de glutamato do sistema nervoso e muscular. Tem baixo efeito residual, pois é facilmente degradado por foto-oxidação (CAO et al., 2015; QIAO et al., 2014).

3.2.2. Controle biológico

O uso de agentes de biocontrole consiste na utilização de outros organismos vivos, principalmente microrganismos como bactérias, fungos, protozoários, vírus entre outros, para o controle de nematoides, os quais não geram impacto negativo no meio ambiente (FERRAZ et al., 2012).

O biocontrole de nematoides pode ocorrer pela utilização de protozoários, bactérias,

fungos e até nematoides com ação de biocontrole (CAI et al., 2016), destacando-se *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Pausteria* spp., *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum*; *T. viride*, *Pochonia* spp., *Arthrobotrys* spp., *Dactylella* spp., *Dreschlerella* spp., *Dactyloides* spp., *Duddingtonia* spp. e *Harposporium* (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016; TIMPER et al., 2016; ZHOU et al., 2016). Os fungos que são nematófagos e atuam sobre *Meloidogyne* sp. tem na sua fisiologia, produção e liberação de enzimas proteases e quitinases, as quais atuam degradando a cutícula (camada de 50% proteína – 30% quitina) do nematoide causando danos também na camada lipídica que é a encarregada da permeabilidade do nematoide, levando a morte (KHAN et al., 2004). Estas enzimas foram isoladas de 19 cepas de *Paecilomyces lilacinus* na Austrália. Após o crescimento do fungo, realizou-se um filtrado do micélio e avaliou-se efeito nematicida; pelo menos 3 cepas produziram enzimas proteases e quitinases que causaram a morte dos nematoides (PARK et al., 2004).

Estudos têm demonstrado o potencial de *P. lilacinus* como agente de biocontrole em plantas de tomateiro (YU et al., 2015; CADIOLI et al., 2009; SANTIAGO et al., 2006; KHAN et al., 2004). O fungo também é utilizado para biorremediação de solos contaminados com cromo, águas que estejam contaminadas com cromo, porque é capaz de reduzir o Cr^{+6} para Cr^{+3} que é facilmente sedimentado e removido do meio (XU et al., 2017).

Huang et al. (2016) avaliaram o efeito ovicida *in vitro* de *P. lilacinus* na concentração de 50% e verificaram inibição da eclosão em 70%. Também quando juvenis de *Meloidogyne incognita* foram expostos aos metabólitos secundários do filtrado de micélio de *P. lilacinus*, verificou-se mortalidade do 100% após 24 horas (SHARMA et al., 2014). Quando *Paecilomyces lilacinus* foi avaliado sobre a população de *Meloidogyne hapla* em casa de vegetação na cultura de tomateiro, obteve diminuição de 50% do número de galhas (SUN et al., 2016). O fungo *Pochonia clamydosporea* foi avaliado por (GIARETTA et al., 2010) em plantas de tomateiro em casa de vegetação; para tanto, houve a incorporação de palha de café inoculada com *P. clamydosporea* e verificou-se que na porcentagem de 5 a 20 % houve a diminuição do número de galhas em 50% e de 70% no número de ovos após 60 dias de infestado o solo com este fungo. O fungo *Trichoderma* spp. também se apresenta como biocontrolador de fitonematides. Al-hazmi; Tariqjaveed (2016) ao avaliar em diferentes concentrações de inóculo de *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride* na cultura de tomate, observaram diminuição de 40% na população de *Meloidogyne javanica*.

Hashem; Elyousr (2011) avaliaram o efeito do *P. lilacinus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pichia guilliermondii* e *Calothrix parietina* sobre J_2 de *Meloidogyne incognita* em condições controladas (*in vitro*). Após 48 horas, a bactéria *P. fluorescens* promoveu

mortalidade de 40% e o fungo *P. lilacinus* promoveu mortalidade de 33% comparado a testemunha (água). Além dos fungos com propriedades nematófagas ou com produção de compostos nematicidas, encontram-se também bactérias com ação de controle de nematoides como *Pseudomonas frederiksbergensis* (CHATTERJEE et al., 2017; SUBRAMANIAN et al. 2015). Ferraz; Brown (2016) mencionam que as bactérias do gênero *Pseudomonas* sp. exercem controle sobre populações dos fitonematoides, pois elas secretam enzimas com capacidade de degradar a cutícula como proteases, quitinases dentre outros compostos (CASTANEDA et al., 2016). Neste contexto Sharma; Sharma (2017) avaliaram duas cepas de *Pseudomonas* sp. como controle de *Meloidogyne javanica* em casa de vegetação, diminuindo em 100% a população e o número de galhas das raízes de tomateiro. *P. frederiksbergensis* além de controlar fitonematoides também pode induzir resistência em plantas a baixas temperaturas e a estresses salinos, regula a produção de etileno e é promotor de crescimento de plantas (CHATTERJEE et al., 2017; SUBRAMANIAN et al. 2015).

Bactérias da espécie *Stenotrophomonas rizhophila* são de crescente interesse biotecnológico devido a o amplo habitat e capacidade de adaptação a diversos ambientes, induzir resistência nas plantas a estresses salinos, controle em patógenos presentes no solo, pois produz enzimas que degradam a parede celular dos fungos e tem produção de antibióticos, controlando *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp., além disso, tem produção de enzimas proteases e quitinases, lipases e nucleases que afetam a cutícula do nematoide (CASTANEDA et al., 2016; RYAN et al., 2009). Além disso, é promotora de crescimento, pela produção de Ácido Indol Acético (AIA), incrementando o crescimento em pimentão e tomateiro (EGAMBERDIEVA et al., 2016; ALAVI et al., 2013; SCHMIDT et al., 2012). Em um estudo realizado por Egamberdieva et al. (2011) no qual plantas de pepino foram inoculadas com *S. rizhophila*, *S. plymuthica* e três espécies de *Pseudomonas* sp., a inoculação com *S. rizhophila* resultou num aumento da massa seca das plantas em 60% quando comparado com a testemunha que não foi inoculada.

Outro estudo com *S. rizhophila* com nematoides *Caenorhabditis elegans*, foram feitas avaliações de mortalidade e mobilidade. Após 72 horas obteve-se mortalidade dos J₂ em 20%, (ZACHOW et al., 2009). A mesma bactéria *S. rizhophila* foi estudada por Insunsa et al. (2002) em população de *Globodera* sp., diminuindo em 75% a população final desse nematoide em casa de vegetação na cultura de batata.

3.2.3. Controle cultural

O controle alternativo refere-se à utilização de qualquer técnica que não utilize produtos químicos, dentre eles acham-se extratos vegetais e qualquer formulação que apresentem metabólitos secundários em sua composição os quais tem efeito sobre pragas e doenças, como é o extrato de *Agave tequilana* (HERBERT-DOCTOR et al., 2016), utilização de brássicas como biofumigante pela produção de metabólitos voláteis (FOURIE et al., 2016) e também, ação de óleos essenciais, entre outras técnicas (FERRAZ et al., 2012).

Os metabólitos secundários são compostos produzidos por um indivíduo de uma espécie que afetam a saúde, crescimento, reprodução ou biologia de outra espécie. Estes compostos aleloquímicos produzidos pelas diversas partes das plantas, aplicados como extrato, eventualmente penetram no solo, e não só influenciam nas raízes vizinhas das plantas, como também afetam o desenvolvimento e reprodução dos nematoides. Diversas plantas utilizadas como extrato aquoso, demonstram ter efeitos positivos no controle de *M. javanica* tal como *Azadirachta indica*, *Adenanthera pavonina*, *Leucaena leucocephala* e *Eucalyptus* sp. com inibição de até 50% da eclosão e mortalidade (ZAINAB et al., 2010; CABONI et al., 2012).

Outra ferramenta utilizada neste controle é a biofumigação, resultado da produção de metabólitos voláteis produzidos por plantas, mediante a biodegradação da matéria orgânica. Os restos culturais mais utilizados para biofumigação são da família Brassicaceae, pela produção de glucosinolatos que tem ação biocida controlando diversos patógenos, incluindo nematoides (FORGE et al., 2016). A incorporação dos restos culturais, compostos e palhas são também uma possível ferramenta para o controle não químico de nematoides, pois eles geram compostos voláteis mediante a decomposição da matéria orgânica que influenciam o desenvolvimento dos diferentes patógenos presentes no solo, incluindo os fitonematoides (LOPEZ et al., 2015; GIARETTA et al., 2010; MEDINA et al., 2009). Além das técnicas já mencionadas podemos citar para utilização no manejo de nematoides, o controle genético, com variedades resistentes ou tolerantes ao nematoide. Dentro do mercado atualmente se apresentam diversos cultivares das diferentes culturas, os quais obtidos com certas características desejadas pelos produtores, dentro das quais podem-se acrescentar a produção, ter resistência a diferentes estresses e também a doenças e pragas (MOLINARI, 2016).

Uma das ferramentas de maior eficiência e de menos custo para o agricultor, utilizada no controle de fitonematoides é o uso em conjunto de rotação de cultura com cultivares resistentes (FERRAZ; BROW, 2016).

3.2.3.1. Substrato exaurido de *Agaricus bisporus*

O fungo *Agaricus bisporus* é cada vez mais cultivado e consumido no mundo (HELENO et al., 2016; PELKMANS et al., 2016; LIU et al., 2013), e compreende cerca do 40% do total da produção mundial de cogumelos. O alto consumo desse cogumelo é devido ao seu conteúdo de nutrientes, carboidratos, proteínas, fibra dietética e também metabólitos que ajudam a prevenir doenças, como hepatites. Depois da colheita dos basídios, o substrato utilizado para o desenvolvimento do fungo é considerado resíduo ou substrato exaurido. Por cada tonelada de cogumelo produzido, são gerados uma a duas toneladas de substrato exaurido. Assim, busca-se uma maneira de aproveitar tal resíduo na agricultura para maximizar o aproveitamento e diminuir a contaminação de solo ou água. O resíduo pode ser utilizado para biorremediação, purificação de ar, solo e água (PARDO-GIMÉNEZ; PARDO-GONZÁLEZ, 2008), pois o fungo *Agaricus bisporus* tem em sua composição quitosana que pode ser utilizada para remover metais pesados. O substrato exaurido pode ser incorporado no solo como adubo, também como fonte de nutrientes e matéria orgânica para a produção de culturas e tem função no controle de doenças (ANANTHA; KOTA, 2016; GARCÍA-DELGADO et al., 2015; GIMENEZ, 2008; RINKER, 2007).

O controle de fitonematoides pela incorporação de substrato exaurido e resíduos agrícolas, pode ser devido à liberação de compostos tóxicos mediante a decomposição da matéria orgânica ou por favorecer o desenvolvimento de microfauna e microrganismos antagonistas (ROJAS et al., 2010).

O substrato exaurido de *A. bisporus* foi utilizado para o desenvolvimento de mudas de tomateiro, o qual melhorou o desenvolvimento da planta, melhorando o solo em sua estrutura, além de aportar nutrientes. Porém, a proporção de substrato exaurido misturado ao solo deve ser no máximo 50% do volume total, pois uma porcentagem maior que isso pode ser negativa para o desenvolvimento das plantas (NAKATSUKA et al., 2016; LOPES et al., 2015; VAN TAM; WANG, 2015; SENDI et al., 2013; MAIA, 1998).

O substrato exaurido pode ser incorporado ao solo como biofertilizante, melhorando as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Sendo também uma ferramenta que pode ser incorporado ao solo para o biocontrole de nematoides (GAMBOA et al., 2015).

Estudos que avaliaram a incorporação de substrato exaurido ao solo demonstraram que a matéria seca das plantas aumenta conforme aumenta a incorporação de substrato ao solo e que as necessidades de fósforo e potássio podem ser totalmente supridas incorporando 5% do volume do solo, no entanto, as necessidades de nitrogênio são supridas com incorporação de 25% do volume, além de promover o crescimento das plantas, podendo aumentar em 50% a produção de hortaliças como alface, tomateiro, etc. (AHLAWAT; SAGAR, 2007).

A utilização de substrato exaurido de *Agaricus bisporus* e *Pleurotus ostreatus* também foi avaliada no desenvolvimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) pepino (*Cucurbita pepo*) e pimentão (*Capsicum annun*) nas proporções de 25, 50, 75 e 100%. A utilização do substrato exaurido até numa proporção de 75% misturado com substrato, e possibilitou melhor desenvolvimento das mudas, aumentando tamanho e diâmetro do caule (MEDINA et al., 2009). Ribas et al. (2009) utilizando substrato exaurido de *Agaricus subrufescens* no desenvolvimento de alface (*Lactuca sativa*) nas proporções de 10, 25 e 40%. Verificou que, com a adição do substrato exaurido a 10%, a matéria seca da alface apresentou incremento de duas vezes com relação a testemunha, sem adição de substrato exaurido.

O substrato exaurido dos diversos cogumelos presentes no mercado apresentam-se como fonte importante de nitrogênio, potássio e fósforo para as culturas, atuando como condicionador de solo, melhorando a estrutura e aportando microrganismos antagonistas de diversos patógenos, além de apresentar compostos fenólicos que atuam sobre os patógenos, sendo que os compostos fenólicos vão decrescendo conforme passa o tempo, como verificaram Aslam; Saifullah (2013), que avaliaram o extrato aquoso dos substratos exauridos

de *Agaricus bisporus* e *Pleorotus ostreatus* na eclosão e mobilidade de *Meloidogyne* sp. e produção de galhas em cultura de tomateiro. Tanto em condições *in vitro*, como em casa de vegetação, a utilização do extrato aquoso do substrato exaurido inibiu a eclosão e mobilidade em relação a testemunha (água), além de inibir o desenvolvimento de galhas quando foi avaliado na cultura de tomateiro, mesmo efeito observado por (AHLAWAT; SAGAR, 2007) na cultura de tomateiro diminuindo a infecção de *Meloidogyne incognita*, inibindo 100% o número de galhas. O cogumelo apresenta também, na sua composição, a enzima catalítica β -glucosidase, utilizada para tratar doenças. Nas plantas, essa enzima tem diferentes funções, como proteção de patógenos, regulação de fitormônios e lignificação. Além disso, a enzima β -glucosidase é utilizada em alimentos, detergentes, têxteis e fármacos (DELGADO-POVEDANO et al., 2016; AŠIĆ et al., 2015; ROYSE, 2007). O substrato exaurido tem como um de seus destinos a elaboração de compostos, que podem ser utilizados na agricultura melhorando as propriedades físicas do solo, além de servir como controle de patógenos como *Phyitium* sp., *Fusarium* sp., *Verticilium* sp., e *Meloidogyne javanica* (KWAK et al., 2015; GEA et al., 2012; RINKER, 2007).

3.2.3.2. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são ferramentas novas que vem sendo utilizadas cada vez mais nas diversas áreas, desde componentes de cosméticos, na veterinária como anti-helmínticos, na medicina como agentes anti-inflamatórios, antimicrobianos, para controle dos radicais livres entre outros usos (TENEVA et al., 2015).

O uso dos óleos essenciais como agentes de controle de doenças nas plantas baseia-se na utilização dos metabólitos voláteis que têm efeito sobre diversos patógenos desde bactérias, fungos e até nematoides. Um desses exemplos é a utilização de óleo essencial de anis no controle de fungos fitopatogênicos em sementes de erva doce, como foi avaliado por Araujo Neto et al. (2012) que utilizaram óleo essencial de anis (*Pimpinella anisum*) na concentração de 2% *in vitro*, inibindo o desenvolvimento de *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Rizhopus* sp., *Aspergillus* sp. e *Nigrospora* sp. quando comparado com a testemunha.

Alves et al. (2014) avaliaram os óleos essenciais de laranja amarga (*Citrus aurantium*), eucalipto (*Eucalyptus globulus* e *E. citidrora*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), salvia (*Salvia sclarea*), copaiba (*Copaifera officinalis*), funcho (*Foeniculum vulgare*), limão (*Citrus limon*), capim cidreira (*Cymbopogon citratus*), menta (*Mentha × piperita*), palmarosa (*Cymbopogon martini*) e laranja doce (*Citrus sinensis*), todos na

concentração de 0,14%, no controle de *Ralstonia solanacearum*, diminuindo até 66% para óleo de copaíba, o crescimento *in vitro*, quando comparado a testemunha e, em casa de vegetação, que reduzindo em 30% em relação a testemunha (água) em pepino doce (*Capsicum annuum L.*), o desenvolvimento da doença.

Os óleos essenciais também podem ser utilizados no controle de fitonematoides. Existem no mercado alguns óleos comercializados para o controle de nematoides, entre eles podemos citar o óleo de gergelim (Nemastop[®]) para controle de nematoides de videira, óleo de gergelim + alho + eugenol + pimenta do reino branca (Neotro Liquid[®]) e óleo de gergelim (Armorex[®]) com controle de patógenos de amplo espectro (FERRAZ et al., 2012).

Pesquisas demonstram que o óleo essencial de cedro (*Lippia alba*) promoveu 96% de mortalidade no nematoide *M. incognita* e os óleos essenciais de mostarda (*Brassica nigra*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e verbena (*Lippia citriodora*), reduziram 44% o nível da população de *Aphelenchoides besseyi* em *Brachiaria brizantha* na concentração de 1% (GONÇALVES et al., 2016; MONTEIRO et al., 2014).

Outras pesquisas demonstram que os óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*), capim citronela (*Cymbopogon winterianus*), *Eucalyptus globulus*, *Menta piperita*, *Eucalyptus citridora*, arruda (*Ruta graveolens*) e orégano (*Origanum vulgare*) diminuíram o número de galhas e a população de *M. incognita* em pepino (MOREIRA et al., 2015; LAQUALE et al., 2015; SILVA et al., 2014; OKA et al., 2000). Os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus*, *Menta piperita*, *Eucalyptus citridora*, arruda (*Ruta graveolens*) na concentração de 0,02%, foram aplicados nos vasos com tomateiros e fechados com plástico para obter o efeito de biofumigação, eles diminuíram em 60% o número de ovos e galhas quando comparados a testemunha (LAQUALE et al., 2015).

Na pesquisa realizada por Oka et al. (2000) foram testadas 27 espécies de plantas diferentes, das quais 12 causaram inibição de 80% da mobilidade do nematoides após dois dias e eclosão após sete dias, quando utilizou-se os óleos essenciais de orégano, eucalipto, na concentração de 0,1%. Foram avaliados os compostos isolado do óleo essencial de anis, (+)-Carvone e t-anethole, na concentração de 250 $\mu\text{L L}^{-1}$, que foram efetivos na mortalidade e mobilidade do nematoide em 80%. Thymol, carvacrol do óleo essencial de orégano na concentração 250 $\mu\text{L L}^{-1}$ inibiram a eclosão de *M. javanica* em 92%.

Também foram testados os óleos essenciais de *Coridothymus capitatus*, *M. rotundifolia*, *Origanum vulgare* e *Origanum syriacum* em casa de vegetação, em plantas de tomateiro. Infestou-se o solo, misturou-se com os óleos essenciais na concentração de 0,02% e fechou com plástico por 7 dias, momento que se abriu e transplantou as mudas. Após 50

dias da inoculação foi avaliada a quantidade de galhas por planta quando verificou-se diminuição de 95% no número de galhas para óleo de *O. vulgare*. Também foram isolados e avaliados os compostos voláteis t-anethole do anis, eucaliptol do eucalipto, carvacrol, (+)- e (-)-carvone do orégano, na concentração de 0,015%, que inibiram em 100% o índice de galhas (OKA et al., 2000). Em cromatografia realizada por Amora et al. (2017), identificaram-se os compostos de óleo essencial de *Origanum vulgare*, apresentando-se o cavacrol como composto majoritário. Neste estudo avaliou-se o óleo essencial de orégano na concentração de 0,25% *in vitro* e em casa de vegetação, verificando inibição da mobilidade do nematoide *M. javanica* e diminuindo o número de galhas em 50%, quando comparado com a testemunha.

O óleo essencial de erva doce (*Foeniculum vulgare*) foi testado sobre a população do vetor da malária (*Anopheles atroparvus*) e sobre o nematoide de galhas (*Meloidogyne javanica*). Foram identificados os compostos presentes no óleo essencial mediante cromatografia de gases, apresentando-se o composto estragol em maior proporção. Os compostos identificados foram isolados e avaliados individualmente, dos quais trans-Anetol apresentou 50% de mortalidade para *A. atroparvus* na concentração de 56 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e a mesma mortalidade para *M. javanica* na concentração de 249 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Entretanto, para o composto estragol, verificou-se a inibição de 100% da eclosão de *M. javanica* na concentração de 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$ (SOUSA et al., 2015)

Dentre os compostos voláteis que as plantas sintetizam tem-se os monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15) e fenois. Um estudo realizado por Ntalli et al. (2011) foram avaliados os terpenos presentes nos óleos essenciais, obtidos das seguintes espécies: *Eucalyptus meliodora*, *Juglans regia*, *Laurus nobilis*, *Pistacia terebinthus*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum* e *Achillea millefolium*, sobre a população de *Meloidogyne incognita* e também foram identificados os compostos majoritários dos óleos essenciais, isolados e avaliados individualmente. Os óleos essenciais de *P. terebinthus*, *P. anisum* e *F. vulgare* tiveram efeito de inibição da mobilidade na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, *L. nobilis* inibiu a mobilidade na concentração de 3000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto *J. regia* e *A. millefolium* não inibiram o mobilidade. Os seguintes compostos apresentaram atividade nematicida nas concentrações de: estragol (230 $\mu\text{g mL}^{-1}$), eudesmol (50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e benzaaldehído (9 $\mu\text{g mL}^{-1}$), para o resto dos compostos identificados a dose com atividade nematicida foi de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram desenvolvidos dois experimentos: um com óleos essenciais e outro com substrato exaurido de cogumelo.

4.1. Local do experimento

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Fitopatologia e na casa de vegetação do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual Centro-Oeste (UNICENTRO), em Guarapuava-PR.

4.2. Obtenção e manutenção do inóculo de *Meloidogyne javanica*

O inóculo de *M. javanica* utilizado foi obtido a partir de uma população pura, oriunda de Londrina (PR), e mantida em plantas de tomateiro cv. Santa Clara, em casa de vegetação a 25 °C.

4.3. Ensaio com óleos essenciais de plantas medicinais

4.3.1. Obtenção e análise cromatográfica dos óleos essenciais de plantas aromáticas

Os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*), eucalipto (*Eucalyptus globolus*) e anis (*Pimpinella anisum*) foram doados pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Foram obtidos por hidrodestilação, a partir de folhas secas ao ar (WORWOOD, 1995), retiradas do horto localizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da UEM.

Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC/MS). As análises foram feitas em aparelho da marca Agilent, modelo 7890A GCSystem, com detector de massas MS, modelo 5975C, pelo método de Ardrey (2003).

4.3.2. Avaliação da eclosão

Para a extração de ovos utilizou-se a técnica proposta por Hussey; Barker modificada por Boneti; Ferraz (1981).

Em tubos de vidro com capacidade de 3 mL, foram adicionados 1 mL da suspensão com 100 ovos de *M. javanica* e 1 mL de cada tratamento. Os tratamentos utilizados foram: o óleo essencial de anis, eucalipto e orégano (concentração de 0,06%); o filtrado de substrato exaurido 1:5 (p:v); testemunha (água); produto biológico *Paecilomyces lilacinus* (Nemat®) 600 g ha⁻¹, 3g L⁻¹; nematicida abamectina (Vertimec®) 500 mL ha⁻¹, 2,5 mL L⁻¹ e as duas bactérias isoladas do substrato exaurido (na suspensão 1x10⁹ UFC) 1 mL por tubo. Os tubos permaneceram no escuro a 25 °C, por 14 dias, quando se quantificou o porcentual de juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. javanica*, com auxílio da câmara de Peters, no microscópio estereoscópico a 100x. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com nove tratamentos e cinco repetições. O estudo foi repetido duas vezes.

4.3.3. Avaliação de mortalidade/mobilidade de J₂

Para determinar a mobilidade/mortalidade de J₂, estes foram extraídos pela técnica de funil de Baermann modificada (FREITAS et al., 2014), e 1 mL da suspensão com aproximadamente 50 J₂ foi colocada em tubos de ensaio contendo os tratamentos como descrito anteriormente. Os tubos foram mantidos no escuro, a 25 °C por 24 horas. Após, quantificou-se os J₂ imóveis em câmara de Peters no microscópio ótico em aumento de 10x, conforme metodologia descrita por Chen; Dickson (2000). Os J₂ que permaneceram imóveis após adição de 1 gota de NaOH 1M, foram classificados como mortos. Assim foi calculado o percentual de J₂ mortos por tratamento. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com nove tratamentos e cinco repetições. O estudo foi repetido duas vezes.

4.3.4. Ação dos óleos essenciais no controle de *M. javanica* em tomateiro

Sementes de tomateiro cv. Santa Clara foram semeadas em bandeja com substrato Maxfertil[®], deixando-as desenvolver até dois pares de folhas expandidas (20 dias aproximadamente). As mudas foram transplantadas para vasos de 3,5 L, os quais continham mistura de solo e areia 2:1 (v:v) esterilizada em autoclave a 120 °C por 1 hora. Essa mistura foi submetida a análises químicas de macro e micronutrientes pela técnica proposta por Kangussú (2011).

Sete dias após o transplante das mudas de tomateiro, infestou-se o solo com suspensão contendo 4000 ovos de *M. javanica* por vaso. Para isso, foram feitos quatro orifícios perto do colo da planta onde depositou-se a suspensão de ovos. Após 24 horas da infestação foram adicionados os tratamentos ao solo por irrigação num volume de 100 mL, para a testemunha (água), óleos essenciais de orégano, anis e eucalipto (0,3%), filtrado substrato exaurido (20%), *Paecilomyces lilacinus* (Nemat[®]) 600 g ha⁻¹, 3g L⁻¹ e abamectina (Vertimec[®]) 500 mL ha⁻¹, 2,5 mL L⁻¹. Os óleos essenciais foram misturados com Tween 20 na proporção 1:1 (v:v) para facilitar a solubilização. O filtrado do substrato exaurido foi obtido da suspensão do substrato de *A. bisporus* com água numa relação de 1:5 (p:v) de acordo com metodologia de Gea et al. (2012). O experimento foi instalado em delineamento de blocos casualizado (DBC) com sete tratamentos e cinco repetições. Os vasos foram mantidos na casa de vegetação com temperatura 24 °C, irrigados periodicamente e mantidos até 60% da

capacidade de campo. Decorridos 75 dias do transplante do tomateiro foram realizadas as seguintes avaliações: número de galhas e ovos por sistema radicular, massa fresca da raiz e da parte aérea, massa seca da parte aérea e altura de planta. O ensaio foi repetido duas vezes.

4.4. Ensaio com substrato exaurido de *Agaricus bisporus*

4.4.1. Obtenção do substrato exaurido de *Agaricus bisporus*

O substrato exaurido foi coletado no fim do ciclo de cultivo de produção de cogumelos *Agaricus bisporus*, em Guarapuava-PR, no distrito de Colônia Vitória, coordenadas 25°33'54.8"S 51°28'59.5"W. O substrato foi mantido em câmara fria a 4 °C até sua utilização.

O substrato foi submetido a análises químicas de macro e micronutrientes, utilizando a técnica citada por Kangussú et al. (2011).

4.4.2. Isolamento e identificação de microrganismos do substrato exaurido

O isolamento de microrganismos do substrato foi realizado conforme a técnica da diluição seriada (AVISHAI; CHARLES, 2014), utilizando 1 g de substrato adicionado em 9 mL de água destilada estéril. A partir dessa solução retirou-se 1 mL que foi adicionado a 9 mL de água destilada estéril, sucessivamente até atingir a diluição de 10^{-4} . Depositou-se alíquota de 1 mL desta suspensão em placa Petri com meio de cultura 523 (KADO; HESKETT, 1970) e incubou-se por 72 horas em câmara tipo BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Passado esse período, selecionou-se colônias de bactérias que apresentaram diferenças morfológicas e de coloração. Essas placas foram incubadas nas mesmas condições citadas anteriormente.

Os microrganismos isolados foram submetidos a extração de DNA, pela técnica de Milton; Megiolaro (2012). As bactérias selecionadas foram multiplicadas em tubos de vidro de 3 mL de capacidade, contendo 2 mL de água com peptona. Após 48 horas a 25° C, retirou-se 1,5 mL da suspensão bacteriana, depositou-se em tubo tipo “ependorf” e centrifugou-se por 10 min. a 10000 rpm. Finalizada a centrifugação descartou-se o sobrenadante e o sedimento foi dissolvido em 600 µL de tampão TES (Tris HCL 10 mM, EDTA 1 mM e SDS 0,65). Na sequência adicionou-se 3 µL de proteinase K e incubou-se por 2 horas a 37° C. Passado esse período de duas horas, as amostras foram lavadas com 500 µL de fenol-

cloroformo-álcool isomilico (25:24:1), em seguida, adicionou-se 10 µL de Na Cl 5M e incubou-se a -20 °C por 2 horas. Transcorrido esse período as amostras foram centrifugadas por 10 min. a 10000 rpm, jogou-se o sobrenadante e lavou-se o sedimento com álcool 70% e foi misturado com 50 µL de água e tratou-se com 5µL de RNase. Finalmente o DNA obtido foi sequenciado, amplificado e identificado pela comparação de genomas na base de dados National Center for Biotechnology Information (NCBI).

4.4.3. Preparo do filtrado do substrato exaurido de *A. bisporus*

Para a obtenção do filtrado de substrato exaurido (FSE) misturou-se esse material de cogumelo *A. bisporus* com água na proporção de 1:5 (p:v), ou seja, 200 gramas de substrato exaurido em 1 L de água, num recipiente de vidro. A mistura foi tampada com papel alumínio e deixou-se em geladeira a 4 °C por 24 horas quando foi filtrado em papel filtro para obtenção do FSE.

4.4.4. Avaliação de compostos voláteis de substrato exaurido de *A. bisporus* na Eclosão de J2 de *M. javanica*

Para a avaliação de produção de compostos voláteis pelo substrato exaurido de *A. bisporus*, adicionou-se em um lado da placa de petri bipartida, substrato exaurido de *A. bisporus* misturado com solo (5 g) em três proporções diferentes (1:1, 1:2 e 1:3, v:v) respectivamente e a testemunha (só solo). Do outro lado da placa adicionou-se 4 mL de suspensão com 100 ovos mL⁻¹ de *M. javanica*, obtidos como descrito anteriormente. As placas foram tampadas e vedadas com filme plástico e mantidas no escuro por 14 dias. Após esse período, quantificou-se o número de J₂ eclodidos em microscópio estereoscópico e aumento 100x. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos e cinco repetições.

4.4.5. Ação do substrato exaurido de *A. bisporus* no controle de *M. javanica* em casa de vegetação

Realizou-se um segundo experimento em casa de vegetação, no qual os tratamentos foram incorporados ao solo. Para a montagem desse trabalho foram adicionados separadamente em saco plástico com capacidade de 40 L⁻¹, solo (argila:areia 2:1 v:v) e

substrato exaurido de *A. bisporus* em três 1:1, 1:2 e 1:3 (v:v), a testemunha foi composta somente de solo. Após homogeneização, o solo foi irrigado até a capacidade de campo e infestado com 4000 ovos mL⁻¹ de *M. javanica*. Feita a infestação, fecharam-se os vasos com plástico preto durante 14 dias, passado esse período realizou-se o transplântio das mudas para os vasos. Os vasos foram mantidos na casa de vegetação a uma temperatura de 24 °C, irrigados periodicamente e mantidos até 60% da capacidade de campo. Decorridos 75 dias do transplântio do tomateiro foram retiradas para realizar as avaliações: número de galhas e ovos por sistema radicular, massa fresca da raiz e da parte aérea, massa seca da raiz e parte aérea e altura de planta. O experimento foi estabelecido em delineamento de blocos casualizado (DBC), com quatro tratamentos e cinco repetições. O ensaio foi realizado duas vezes.

4.5. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados no programa estatístico SISVAR[®] (FERREIRA, 2011), pelo teste de Scott Knott com 95% de confiabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Resultados com óleos essenciais

5.1.1. cromatografia dos óleos essenciais

No óleo essencial de orégano foram identificados como compostos predominantes: Terpinen-4-ol, 5-cyclopropilideno-1-pentanol, timol, carvacrol (Tabela 1). Componentes majoritários semelhantes foram obtidos por Ibrahim et al. (2006) e por Amora et al. (2017)

que quantificaram o carvacrol e o timol como componentes majoritários no óleo essencial de *Origanum syriacum* e *Origanum vulgare* respectivamente, apresentando estes dois compostos ações nematicida (OKA et al., 2000).

Tabela 1: Compostos identificados no óleo essencial de orégano, eucalipto e anis mediante cromatografia gaseosa.

Compostos <i>Origanum vulgare</i>	% de área	Índice de retenção de Kovac
cis- β -Terpineol	2,41	1144
(E)-p-2-Menten-1-ol	1,13	1172
Norpinane, 6,6-dimetil-3-metileno-	1,07	1128
Terpinen-4-ol	24,52	1177
5-ciclopropilideno-1-pentanol	3,32	1197
p-Menth-1-em-3-ol, cis-	0,49	1213
Anisole, 2-isopropil-5-metil-	0,97	1230
3,9-dodecadiyne	8,01	1249
timol	16,07	1290
carvacrol	0,75	1299
Spathulenol	1,71	1575
<hr/>		
Compostos <i>Eucalyptus globulus</i>		
(-)- α -Pinene	0,38	926
o- Cymene	2,23	1035
(-)-Limonene	0,86	1034
Eucaliptol	96,52	1036
<hr/>		
Compostos <i>Pimpinella anisum</i>		
p- Anisaldeído	0,44	1177
Estragol	98,00	1195

No óleo essencial de anis encontram-se em maior porcentagem os componentes p-Anisaldeído e Estragol (Tabela 1). Resultados similares foram obtidos na cromatografia do óleo essencial de anis (*Pimpinella anisum*) realizada por Kosalec et al. (2005), que obtiveram como composto majoritário o Estragol, composto com ação nematicida como tem sido demonstrado por Oka et al. (2000). Diferindo dos resultados obtidos por Ntalli et al. (2009) que, na análise cromatográfica do óleo essencial de anis, encontraram como composto majoritário Trans Anethole. A diferença do composto majoritário identificado pode ser, devido a um cultivar diferente utilizado no cromatograma realizado por Ntalli et al. (2009), ou talvez as condições edafo-climáticas diferentes, as quais foram expostas as plantas utilizadas

para a extração, mudando a fisiologia e a formação de metabólitos secundários das plantas utilizadas para a extração, como também pode ter influenciado a hora do dia em que foram realizadas as colheitas do material (OKA et al., 2000).

No óleo essencial de eucalipto, encontrou-se em maior porcentagem o componente eucaliptol, constituindo 90% do óleo essencial (Tabela 1). Resultados similares foram obtidos no trabalho realizado por Laquale et al. (2015) que quantificaram no cromatograma do óleo essencial de eucalipto como componente majoritário o eucaliptol, constituindo até 90% do óleo. Mesmo componente predominante foi constatado por Oka et al. (2000), que também avaliaram o eucaliptol isoladamente e verificaram que o mesmo apresentava propriedades nematocidas.

5.1.2. Eclosão e mobilidade/mortalidade de J₂ de *M. javanica*

No presente trabalho os óleos essenciais de anis, eucalipto e orégano foram eficientes no controle de *M. javanica*, provavelmente por apresentarem compostos com ação nematocida na sua composição. Os tratamentos biológicos também foram eficientes na inibição da eclosão dos J₂ e da mobilidade dos J₂ de *M. javanica*, inibindo mais que 90% quando comparados com a testemunha (água) (Tabela 2), sendo tão eficientes quanto o controle químico (Abamectina).

Tabela 2: Eclosão e mobilidade dos J₂ *in vitro* de *M. javanica*

Tratamento	Nº Eclodido	% Eclosao	Nº J ₂ Mobil	% Mobilidade
Eucalipto	13	17,3 a	4	4,2 a
Orégano	0	0 a	2	2,1 a
Anis	0	0 a	0	0 a
STR	5	6,6 a	0	0 a
PSF	9	12,0 a	0	0 a
FSE	0	0 a	49	51,5 a

Testemunha	70	100 b	95	100 b
Abamectina	0	0 a	0	0 a
<i>P. lilacinus</i>	8	10,6 a	95	100 b

FSE: filtrado de substrato exaurido, STR: *Stenotrophomonas rhizophila*, PSF: *Pseudomonas frederikksbergensis*. Diferentes letras, para todos os tratamentos que apresentaram diferenças estatísticas pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.

O óleo de orégano inibiu em 100% a eclosão dos J₂ de *M. javanica* (Tabela 2) isto provavelmente deve-se aos compostos com propriedades nematicidas presentes no óleo essencial como timol e carvacrol que estão dentre os cinco compostos mais abundantes no cromatograma (Tabela 1). Neste trabalho o óleo foi utilizado na concentração de 3 µg mL⁻¹ (0,3%), no entanto, Oka et al. (2000) utilizaram os compostos isolados, timol e carvacrol, na concentração de 250 µg L⁻¹ e obtiveram inibição da eclosão dos J₂ de *M. javanica*. Resultados semelhantes também foram obtidos por Amora et al. (2017), que observaram que o óleo essencial de *O. vulgare* na concentração de 0,25% inibiu 100% da eclosão.

O óleo essencial de anis teve efeito similar pela estatística é igual ao controle químico abamectina (Tabela 2). O efeito inibitório provavelmente se deu pela presença do composto Estragol, ingrediente majoritário deste óleo essencial (Tabela 1), que tem sido estudado quanto a seus efeitos nematicidas na eclosão de *M. javanica*, como foi constatado por Sousa et al. (2015), no entanto Ntalli et al. (2011) propõem como dose letal de Estragol para *Meloidogyne incognita* de 230 µg mL⁻¹.

O óleo essencial de eucalipto teve o mesmo efeito que o controle químico suprimindo 100% da eclosão dos J₂ de *M. javanica* na concentração de 3 µg mL⁻¹ (Tabela 2). O efeito inibitório é provavelmente devido a presença do eucaliptol, composto majoritário presente no óleo essencial (Tabela 1). Oka et al. (2000) evidenciaram inibição da eclosão de *M. javanica*, quando os nematoides foram submetidos ao composto eucaliptol na concentração de 250 µg L⁻¹ *in vitro*. Na pesquisa realizada por Laquale et al. (2015), os autores obtiveram controle superior a 90% sobre a eclosão de *M. incognita* com concentrações de 50 µg L⁻¹ de óleo essencial de eucalipto.

Os tratamentos com óleo essencial de eucalipto, orégano e anis (concentração 0,3%) e as bactérias STR e PSF foram iguais ao controle químico abamectina, reduzindo em 95% e 100% respectivamente a mobilidade de J₂ de *M. javanica* (Tabela 2).

O filtrado do substrato exaurido inibiu a eclosão dos J₂ de *M. javanica* em 100% (Tabela 2), resultados semelhantes foram obtidos por Aslam; Saifullah (2013), que utilizando

extrato aquoso de *A. bisporus* e *P. ostreatus* verificaram inibição total da eclosão de *Meloidogne* sp. E também, reduziu em 50% a mobilidade dos J₂ de *M. javanica* (Tabela 2), provavelmente devido ao tempo transcorrido do momento de obtenção até a utilização, pois este vai perdendo os compostos voláteis (terpenos) ao passar do tempo como foi abordado por Aslam; Saifullah (2013).

Na mortalidade/mobilidade observa-se que o tratamento com *Paecilomyces lilacinus* não se diferenciou da testemunha (água) (Tabela 2).

O óleo de orégano inibiu 98% a mobilidade dos J₂ de *M. javanica* (Tabela 2), isto pode ser devido aos compostos com propriedades nematocidas presentes no óleo essencial como thymol e carvacrol (Tabela 1), resultados similares foram obtidos por Oka et al. (2000) e por Amora et al. (2017). O óleo essencial de anis teve o mesmo efeito do controle químico Vertimec® não diferenciando-se estatisticamente. O efeito inibitório da mobilidade provavelmente é pela presença do composto Estragol, no anis. Resultados semelhantes foram obtidos por Sousa et al. (2015), com doses de 1 µL mL⁻¹. Entretanto, Ntalli et al. (2011) propõem como doses letal de Estragol para nematoides, 230 µg mL⁻¹. O óleo essencial de eucalipto inibiu 96% a mobilidade dos J₂ (Tabela 2) devido provavelmente à presença do eucaliptol, no óleo essencial. O mesmo efeito foi observado por Oka et al. (2000) na concentração de 250 µL L⁻¹ e, também, por Laquale et al. (2015) que verificaram a inibição de 60% na mobilidade de *M. incognita* com concentrações de 50 µL L⁻¹ do óleo de eucalipto.

E quanto ao controle de *Paecilomyces lilacinus* sobre juvenis, não observou-se mortalidade dos J₂ de *M. javanica* (Tabela 2). Resultados distintos foram obtidos por Hashem; Elyousr (2011) que avaliaram *P. lilacinus* em condições *in vitro* sobre a população de *M. incognita*, obtendo mortalidade de 30% com relação a testemunha (água). Os metabólitos secundários produzidos por *P. lilacinus* mediante filtração do micélio do fungo, promoveram inibição da mobilidade e mortalidade de 100% de *Meloidogyne incognita* (SHARMA et al. 2014).

5.1.4. Resultados em casa de vegetação

Os óleos essenciais de orégano, anis e eucalipto no experimento em casa de vegetação, não apresentaram diferenças estatísticas (Tabela 3) para as variáveis de desenvolvimento de planta de tomateiro como: altura, diâmetro de caule, massa fresca da folha, massa seca da folha, comprimento de raiz, massa fresca raiz e massa seca da raiz, pelo teste de Scott Knott com 95% de confiabilidade.

Tabela 3: Altura de planta, diâmetro de caule, massa fresca e seca da raiz, e massa fresca e seca da raiz de tomateiro cv. Santa Clara após 75 dias em casa de vegetação.

Tratamento	Altura cm	Diâmetro cm	MF parte aérea g	MS parte aérea g	MF raiz g	MS raiz g
Testemunha	80,20 ns	0,72 ns	32,92 ns	5,23 ns	28,39 ns	4,13 ns
Orégano	84,50	0,70	36,30	5,64	27,57	4,05
Anis	82,80	0,66	30,43	4,84	25,32	3,05
Eucalipto	76,10	0,70	30,54	4,70	24,73	3,34
<i>P. lilacinus</i>	76,20	0,70	30,42	4,72	28,03	3,75
FSE	88,80	0,80	38,96	6,09	28,90	3,71
Abamectina	87,60	0,68	35,01	5,36	22,78	2,68

MF: massa fresca, MS: massa seca. NS: não houveram diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a 95% de probabilidade.

Para as variáveis número de galhas e número de ovos, foram observadas diferenças estatísticas. Em geral, todos os tratamentos diminuíram o número de galhas das raízes do tomateiro, e o óleo essencial de anis teve o mesmo efeito que o controle químico abamectina não diferenciando-se estatisticamente entre si (Tabela 4).

Tabela 4: Numero de galhas e ovos por sistema radicular em tomateiro cv. Santa Clara, após 75 dias em casa de vegetação.

Tratamento	N° galhas	% redução	N° ovos	% redução
Orégano	273 b	52,3 b	105604 b	41,8 b
Anis	37 a	94,4 a	6398 a	98,7 a
Eucalipto	268 b	53,2 b	153500 b	44,1 b
FSE	342 b	39,9 b	179878 b	34,3 b
Testemunha	560 c	0 c	269327 c	0 c
<i>P. lilacinus</i>	267 b	53,4 b	155124 b	43,5 b
Abamectina	3 a	99,0 a	289 a	99,0 a

FSE: Filtrado de substrato exaurido obtido da relação 1:5 (p:v). Deferentes letras para os tratamentos que apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas com a testemunha, pelo teste de Scott Knot com 95% de significância.

O menor número de galhas e ovos por sistema radicular foi observado para os tratamentos abamectina e óleo essencial de anis na concentração 0,3% (Tabela 4). Essa redução no número de galhas foi de 94,4% para anis e 99% para abamectina em relação à testemunha (água), entretanto para o número de ovos a redução foi de 98,7% para anis e 99% para abamectina, efeito que se pode atribuir aos compostos com ação nematicida, como estragole e p-anisaldeído como comprovado também por Oka et al. (2000). O tratamento com o óleo essencial de orégano diminuiu em 52,3% o número de galhas e 41,8% o número de ovos, resultados semelhantes foram obtidos por Amora et al. (2017). A diminuição de 52,3% provavelmente foi porque os compostos nematicidas foram volatilizados facilmente, pois no estudo realizado por Oka et al. (2000) no qual utilizaram o óleo essencial de orégano na concentração de 0,02%, obtendo raízes sadias e diminuindo o número de ovos em 50% com respeito a testemunha, diferindo da metodologia utilizada, pois eles fecharam os vasos com plástico por 7 dias a 25 °C, além de usar etanol para aumentar a solubilidade e não Tween.

O óleo essencial de eucalipto diminuiu em 53% o número de galhas e 44% o número de ovos com respeito a testemunha (Tabela 4), esta diminuição foi provavelmente pela evaporação rápida dos compostos, pois Laquale et al. (2015) utilizando óleo essencial de eucalipto na concentração de 0,02% obteve resultados semelhantes reduzindo em 60% o número de ovos e galhas, fechando os vasos para ter uma evaporação mais lenta dos compostos voláteis nematicidas.

O filtrado de substrato exaurido reduziu o número de galhas em 50% quando comparados com a testemunha (Tabela 4), provavelmente pela evaporação dos metabólitos voláteis durante o tempo de armazenamento sem utilização, segundo o proposto por Aslam; Saifullah (2013).

Os resultados obtidos pela aplicação do fungo *Paecilomyces lilacinus* mostraram redução no número de galhas em 39,9% e 34,3% para o número de ovos quando comparados com a testemunha (Tabela 4), corroborando com os resultados obtidos por Sun et al. (2016), que observaram redução de 50% no número de galhas e 40% o número de ovos produzidos por *M. hapla* em casa de vegetação na cultura de tomateiro com o uso do mesmo fungo. Resultados diferentes foram obtidos por Huang et al. (2016) que observaram inibição de 70%

na eclosão de *M. incognita* utilizando este fungo, e diferindo também dos resultados obtidos por Sharma et al. (2014) que verificaram mortalidade de 100% em *M. javanica* utilizando metabólitos secundários do filtrado de micélio de *P. lilacinus*.

5.2. Resultados com substrato exaurido de *A. bisporus*

5.2.1. Análise química e microrganismos isolados do substrato exaurido de *A. bisporus*

A análise química de macro e micronutrientes do substrato exaurido de *Agaricus bisporus* e do solo utilizado como substrato, estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5: Micro e macro nutrientes quantificados no solo e substrato exaurido.

Amostra	N	P	Fe	Zn	Cu	Mn	Ca	Mg	K	pH
Unidades	mg/dm ³					cmoL/dm ³				
Substrato	20,18	14,70	1454	371,1	144,3	116,9	3,64	0,9	0,32	5,92
Solo	3	1,8	2,79	0,09	0,09	0,582	1,09	0,2	0,089	6,19

No solo todos os minerais, tanto macronutrientes como micronutrientes estão abaixo dos níveis apresentados pelo substrato exaurido (Tabela 5). Para o substrato exaurido de cogumelo, todos os macronutrientes encontram-se dentro dos níveis ótimos para a cultura de tomateiro e alguns dos micronutrientes apresentam teores superiores aos níveis ótimos, como Fe, Zn, Mn, e neste caso, a planta conta com uma reserva de nutrientes disponíveis no vaso para sua utilização, demonstrando porque as plantas se desenvolveram mais nos vasos com adição de substrato exaurido diferenciaram-se da testemunha (Tabela 6). Resultados semelhantes foram obtidos por Lopes et al. (2015) com a adição de substrato exaurido de *Agaricus subrufescens* nas proporções de 20 e 40%, induzindo plantas com maior desenvolvimento. No entanto Couto et al. (2016) avaliaram o efeito do zinco e boro na reprodução de *Meloidogyne incognita*, determinando que doses de 60g L⁻¹ de Zinco e de 400g L⁻¹ de boro, diminuem o número de galhas e a população do nematoide, podendo estes micronutrientes ter interferido no resultado (Tabela 7).

Os microrganismos isolados e identificados mediante sequenciamento e amplificação de DNA foram *Pseudomonas frederikksbergensi*, bactéria que pode induzir resistência a estresse salino e estresse por frio nas plantas, e que também pode atuar sobre populações de

nematoides fitopatogénos inibindo seu desenvolvimento como foi estudado por alguns autores (CHATTERJEE et al. 2017; SUBRAMANIAN et al., 2015; SCHMIDT et al., 2012). A outra bactéria identificada foi *Stenotrophomonas rhizophila*, que além de poder induzir resistência a estresses na planta, tem efeito de promotor de crescimento nas plantas pela produção de ácido indol acético, também produzindo antibióticos com efeito nematicida (EGAMBERDIEVA et al., 2016; ZACHOW et. al, 2009). Organismos semelhantes foram obtidos por Ahlawat; Sagar (2007), que isolaram de substrato exaurido de *A. bisporus* as bactérias *Pseudomonas* sp. e *Bacillus* sp.

5.2.2. Eclosão de *M. javanica* *in vitro* com substrato exaurido de *A. bisporus*

Na avaliação da eclosão de *M. javanica* por compostos voláteis produzidos pelo substrato exaurido, realizada em placas bipartidas não foram observados resultados significativos em nenhum dos tratamentos (Figura 1). Estes resultados podem ser devido à baixa produção de compostos voláteis (fenóis), pois o armazenamento do substrato pode ter influenciado na perda daqueles compostos fenólicos como propõe Aslam; Saifullah (2013). Além disso, o controle de fitonematoides pode estar relacionado com a presença de microrganismos e não com os compostos voláteis.

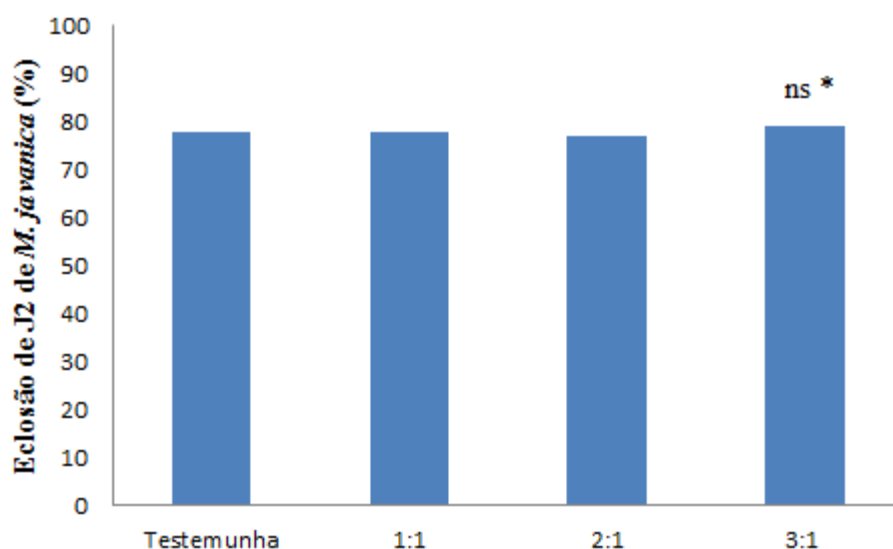


Figura 1: Eclosão dos J₂ de *M. javanica* após 15 dias em escuro a 25 °C, em placas bipartidas contendo relações solo:substrato exaurido de *A. bisporus* 1:1, 2:1 e 3:1 (v:v). Não houve diferenças estatísticas entre tratamentos pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.

5.2.2. Substrato exaurido em casa de vegetação

As variáveis altura da planta, diâmetro da haste, massa fresca e massa seca da folha foram influenciados positivamente pelos tratamentos nos quais adicionou-se substrato exaurido de *A. bisporus* (Tabela 6). No comprimento de raiz de tomateiro, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (dados não apresentados).

Todos os tratamentos diferenciaram-se estatisticamente em relação a testemunha (água) e ao controle químico abamectina, incrementando a altura das plantas em 25% (Tabela 6).

Tabela 6: Altura de planta, diâmetro de caule, massa fresca e massa seca da parte aérea de tomateiro cv. Santa Clara, após 75 dias em casa de vegetação.

Tratamento	Altura cm	Diâmetro cm	MF Parte aérea g	MS parte aérea g
1:1	100,92 a	1,17 a	130,85 a	19,52 a
1:2	95,07 a	1,10 a	110,97 a	15,36 a
1:3	98,78 a	1,13 a	125,05 a	16,19 a
Testemunha	79,20 b	0,72 b	32,92 b	5,23 b
Abamectina	78,00 b	0,70 b	33,00 b	6,00 b

Relações substrato exaurido:solo 1:1, 1:2 e 1:3 (v:v). MF: massa fresca, MS: massa seca. Diferentes letras para os tratamentos que apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas com a testemunha, pelo teste de Scott Knott com 95% de confiabilidade.

Não se observaram diferenças estatísticas para altura de planta, diâmetro de caule, massa fresca e massa seca da parte aérea entre as diferentes relações de mistura solo:substrato exaurido, nem diferenças entre testemunha e controle químico abamectina (Tabela 6).

O maior diâmetro de caule (40% a mais com respeito a testemunha) e a maior altura

das plantas pode ser devido ao substrato exaurido por apresentar maior quantidade de nutrientes disponíveis para as plantas como observado na análise química (Tabela 5). Resultados semelhantes foram obtidos por Medina et al. (2009) que utilizaram substrato exaurido de cogumelo de 25 até 100% do volume do vaso e verificaram aumento na altura das plantas de tomateiro e pimentão em até 50% quando comparados com a testemunha, sendo 75% do volume o limite máximo de incorporação de substrato exaurido.

Para a massa fresca e massa seca da parte aérea todas as relações de substrato exaurido diferenciaram-se estatisticamente da testemunha (água) e controle químico abamectina, apresentando três vezes mais massa fresca e seca em comparação com a testemunha (Tabela 6).

Resultados semelhantes foram obtidos por Medina et al. (2009) que incorporando substrato exaurido, obtiveram aumento de massa fresca e seca, outro resultado semelhante foi obtido por Ribas et al. (2009) que incorporaram substrato exaurido de *Agaricus subrufescens* na cultura de alface aumentando duas vezes a massa seca da alface em relação a testemunha. Ahlawat; Sagar (2007) mediante a incorporação de substrato exaurido, incrementaram em 50% a produção na cultura de tomateiro, suprimindo as necessidades de nitrogênio da cultura com a adição de 25% do volume do vaso.

Conforme o evidenciado neste trabalho o substrato exaurido é fonte de microrganismos com potencial de bioestimuladores do crescimento como *Stenotrophomonas rhizophila* e *Pseudomonas frederikksbergensis* (EGAMBERDIEVA et al., 2016; ALAVI et al., 2013; SCHMIDT et al., 2012). Estas bactérias identificadas podem ter tido influência nos resultados pelos possíveis efeitos de bioestimular o desenvolvimento da planta. Resultados semelhantes com *P. frederikksbergensis* foram obtidos por Subramanian et al. (2015) na cultura de tomateiro, induzindo maior desenvolvimento das plantas (50% mais em relação a testemunha), efeito demonstrado também por Chatterjee et al., (2017) que infestaram o solo com *P. frederikksbergensis* na cultura de pimentão aumentando o desenvolvimento das plantas em 30%.

A bactéria *Stenotrophomonas rhizophila* apresentou resultados semelhantes nas pesquisas realizadas por Egamberdieva et al. (2016), Alavi et al. (2013) e Schmidt et al. (2012) quando foi utilizada na infestação de solo, aumentando até 60% a massa seca das hortaliças como pepino e tomateiro, provavelmente pela possível produção de ácido indol acético sintetizado pela bactéria.

A massa fresca das raízes de todos os tratamentos que se adicionou substrato exaurido aumentaram em 100% em relação a testemunha (água) e ao controle químico abamectina.

Enquanto que para a massa seca das raízes a adição de substrato exaurido também influenciou positivamente aumentando a massa seca em 35% em relação a testemunha e controle químico. No entanto, para o número de galhas e ovos por sistema radicular houve diminuição por todos os tratamentos que adicionaram substrato exaurido de *A. bisporus* (Tabela 7).

Tabela 7: Massa fresca e massa seca da raiz, número de galhas e número de ovos de raízes de tomateiro cv. Santa Clara após 75 dias em casa de vegetação e seus respectivos % de redução.

Tratamento	MF raiz g	MS raiz g	N° galhas	% redução	N° ovos	% redução
1:1	67,76 a	9,66 a	16 a	97,1 a	1765 a	99,4 a
1:2	54,36 a	8,66 a	83 a	85,7 a	16115 a	95,1 a
1:3	51,56 a	7,43 a	42 a	93,2 a	9397 a	97,6 a
Testemunha	28,39 b	4,13 b	543 b	0,0 b	269327 b	0,0 b
Abamectina	27,00 b	5,00 b	10 a	99,2 a	8000 a	97,1 a

Relações substrato exaurido:solo 1:1, 1:2 e 1:3 (v:v). MF: massa fresca, MS: massa seca. Diferentes letras para os tratamentos que diferenciam-se estatisticamente da testemunha pelo teste de Scott Knott com 95% de confiabilidade.

O aumento de massa fresca e seca se correlaciona com a porcentagem de substrato exaurido adicionado, assim a medida que se aumenta o substrato exaurido, incrementa-se a massa da raiz, porém não houve diferenças estatísticas entre as diferentes proporções de substrato exaurido adicionadas (Tabela 7).

Este aumento da massa fresca e massa seca das raízes do tomateiro pode ser devido aos nutrientes presentes no substrato exaurido de *A. bisporus*. Lopes et al. (2015) avaliaram a incorporação de substrato exaurido de *Agaricus subrufescens* em vasos na casa de vegetação, resultando que a medida que se incrementava a adição do resíduo causava redução na massa seca da raiz na cultura de pepino.

Este aumento também pode ser devido à presença das bactérias com possível potencial de bioestimuladores do crescimento como são *S. rhizophila* e *P. frederikksbergensis* Chatterjee et al. (2017), inocularam plantas de pepino em casa de vegetação com *Pseudomonas frederikksbergensis*, e verificaram aumento de 30% na massa seca das raízes em comparação a testemunha.

O número de ovos e galhas por sistema radicular foi reduzido pela incorporação de substrato exaurido de *A. bisporus*. A incorporação de três proporções de substrato ocasionou controle sobre *M. javanica* similar ao tratamento químico abamectina, diminuindo o número

de galhas e ovos em 95% quando comparados com a testemunha, não diferenciando-se estatisticamente do controle químico (Tabela 7). Porém todos os tratamentos diferenciaram-se estatisticamente da testemunha. A diminuição de galhas e ovos nos tratamentos que se adicionou substrato exaurido pode ser devido aos microrganismos presentes no substrato como *S. rhizophila* e *P. frederikksbergensis*, que são consideradas bactérias oportunistas e parasitas de nematoide, pois elas vivem em simbiose com as raízes das plantas, protegendo-as dos patógenos (EGAMBERDIEVA et al., 2011).

Estas bactérias podem liberar metabólitos secundários que afetam ao corpo do nematoide, como enzimas proteases, quitinases influenciando o desenvolvimento e no ciclo de vida do nematoide, pois degradam a cutícula do nematoide e a casca do ovo, que é a encarregada da proteção deste (CASTANEDA et al., 2016). Estudos destacam a atividade das enzimas proteases produzidas por *Pseudomonas* sp. (SHARMA; SHARMA, 2017), na redução de 100% do numero de galhas em tomateiro.

Outros estudos que demostram esta atividade da bactéria, nos foram obtidos resultados semelhantes, foi realizado por Insunza et al. (2002) obtiveram redução de 75% da população final respeito a testemunha, utilizando *Stenotrophomonas rizophila* na cultura de batata sobre *Glorboder* sp. Outros resultados semelhantes na cultura de tomateiro foram obtidos por Sharma; Sharma (2017) que avaliaram *Pseudomonas* em populações de *Meloidogyne javanica* diminuindo 95% o numero de ovos após 60 dias em casa de vegetação. Pode ser também, que as bactérias isoladas tenham algum efeito de indução de resistência na planta, possivelmente mudando a fisiologia ou morfologia da zona de infecção do patógeno.

Outra possível causa de o substrato exaurido de *A. bisporus* ter reduzido o numero de ovos e galhas, é a presença de Boro e Zinco no substrato exaurido, pois segundo Couto et al. (2016), doses superiores a 60g L⁻¹ de Zinco o 400g L⁻¹ Boro inibem o normal desenvolvimento de *Meloidogyne* spp. Resultados semelhantes foram obtidos por Ahlawat; Sagar (2007) pela incorporação de substrato exaurido de *A. bisporus* na cultura de tomateiro obtiveram raízes sadias e livres de galhas em casa de vegetação.

6. CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de orégano, anis, eucalipto e o substrato exaurido de *A. bisporus* foram eficientes no controle de *M. javanica*, reduzindo a população do patógeno.

Os óleos essenciais de anis, orégano e eucalipto não tiveram influência no desenvolvimento das plantas de tomateiro.

O substrato exaurido de *A. bisporus* influenciou positivamente o desenvolvimento das plantas de tomateiro, aumentando tamanho, vigor e massa seca.

Os nutrientes presentes no substrato exaurido são maiores que os teores presentes no solo, apresentando uma fonte de minerais para desenvolvimento das plantas.

O substrato exaurido de *A. bisporus* contém microrganismos (*Stenotrophomonas rhizophila* e *Pseudomonas frederikksbergensis*) que afetam a eclosão e mobilidade dos nematoides.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHLAWAT, O. P.; SAGAR, M. P. Management of spent mushroom substrate. National Research Centre for Mushroom. New Delhi. Yugantar Prakashan Pvt. Ltd. 2007.

AL-
-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 23, n. 2, p. 288-292. 2016.

ALAVI, P.; STARCHER, M. R.; ZACHOW, C.; MÜLLER, H.; BERG, G. Root-microbe systems: the effect and mode of interaction of Stress Protecting Agent (SPA) *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405^T. **Frontiers in Plant Science**. v. 4, pp. 10. 2013.

ALVAREZ, C. C.; ABALLAY, E. Rhizobacteria with nematicide aptitude: enzymes and compounds associated. **World Journal Microbiol Biotechnol**. v. 203, n. 32. 2016.

- AMORA, D. X.; PODESTÁ, G. S.; GRUPIONI, P. H. F.; NASU, E. G. C.; FIGUEIREDO, L. D.; FERREIRA, F. C.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Effect of essential oils on the root-knot nematode management. **Agri-Environmental Sciences**, v. 3, n. 1, p. 15-23. 2017.
- ANANTHA, R. K.; KOTA, S. Removal of lead by adsorption with the renewable biopolymer composite of feather (*Dromaius novaehollandiae*) and chitosan (*Agaricus bisporus*). **Environmental Technology and Innovation**, v. 6, n. 1, p. 11-26. 2016.
- ANTÓN, W. S.; HERNÁNDEZ, T. J. Nematicidal activity of plant extracts from *Quassia amara* e *Brugmansia suaveolens* against *Meloidogyne*. **Memorias VII Congreso de la Red Latinoamericana de Ciencias Ambientales**. v. 1, p. 125-137. 20017.
- ARDREY, R. E.; Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction, Wiley: Huddersfield. pp. 288. 2003.
- AŠIĆ, A.; BEŠIĆ, L.; MUHOVIĆ, I.; DOGAN, S.; TURAN, Y. Purification and Characterization of β -Glucosidase from *Agaricus bisporus* (White Button Mushroom). **Protein Journal**, v. 34, n. 6, p. 453-461. 2015.
- ASLAM, S.; SAIFULLAH. Organic management of root knot nematodes in tomato with spent mushroom compost. **Sarhad Journal of Agriculture**. v.29, n.1, p. 63-69. 2013
- AVISHAI B.D.; CHARLES, E. D. Estimation method for serial dilution experiments. **Journal of Microbiological Methods**, v. 107, p. 214-221. 2014.
- BAI, Y.; LINHOUT, P. Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future?. **Annals of Botany**, v. 100, n. 5, p. 1085-1094. 2007.
- BALZAN, M. V.; BOCCI, G.; MOONEN, A. C. Landscape complexity and field margin vegetation diversity enhance natural enemies and reduce herbivory by Lepidoptera pests on tomato crop. **BioControl**. v. 61, n. 2, p. 141-154. 2016.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, SP. 341p. 2009.
- BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 553-558, 1981.
- BONGERS, T.; ESQUIVEL, A. **Manual Morfologia de los Nematodos**. Curso de identificación. 1º Edición. Universidad Nacional Costa Rica, 43 p. 2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid e sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254. 1976.
- CABONI, P.; AISSANI, N.; DEMURTAS, M.; NTALLI, N.; ONNIS, V. Nematicidal activity of acetophenones and chalcones against *Meloidogyne incognita* and structure-activity considerations. **Pest Management Science**. v. 72, n. 1, p. 125-130. 2016.

CABONI, P.; SARAIS, G.; AISSANI, N.; TOCCO, G.; SASANELLI, N.; LIORI, B.; CARTA, A.; ANGIONI, A. Nematicidal Activity of 2-Thiophenecarboxaldehyde and Methylisothiocyanate from Caper (*Capparis spinosa*) against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 60, p. 7345-7351. 2012.

CAI, K. Z.; LIU, J. L.; LIU, W.; WANG, B. B.; XU, Q.; SUN, L. J.; CHEN, M. Y.; ZHAO, M. W.; WU, J. Y.; LI, X. S.; YANG, J.; WEI, S.; CHEN, C. R.; MA, Z. R.; XU, C. L.; WANG, F.; HU, Q. L.; FANG, W. X.; ZHENG, T. H.; WANG, Y. Y.; ZHU, W. L.; LI, D.; LI, Q.; ZHANG, C.; CAI, B.; WANG, F.; YANG, Z. Y.; LIU, Y. Q. Screening of different sample types associated with sheep and cattle for the presence of nematophagous fungi in China. **Journal of Basic Microbiology**. v. 53, n. 3, p. 214-228.2016.

CADIOLI, M. C.; SANTIAGO, D. C.; OLIVEIRA, A. D.; PAES, V. S.; ARIEIRA, G. O.; BAIDA, F. C. Efeito de isolados de *Paecilomyces lilacinus* no desenvolvimento de cafezais e na população de *Meloidogyne paranaenses*. **Ciência e Agrotecnia**. v. 33, n. 3, pp. 7. 2009.

CANTERO, R. E.; CANTERO, N.E.; ROMERO, A.R.; FERNÁNDEZ, M. R.; MARTÍNEZ, A.C.; PÉREZ, A.F.; ALBACETE, A. Improving agronomic water use efficiency in tomato by rootstock-mediated hormonal regulation of leaf biomass. **Plant Science**. v. 251, p. 90-100. 2016.

CAO, J.; GUENTHER, R. H.; SIT, T. L.; LOMMEL, S. A.; OPPERMAN, C. H.; WILLOUGHBY, J. A. Development of Abamectin Loaded Plant Virus Nanoparticles for Efficacious Plant Parasitic Nematode Control. **ACS Applied Materials & Interfaces**. v. 7, p. 9546-9553. 2015.

CHATTERJEE, P.; SAMADDAR, S.; ANANDHAM, R.; KANG, Y.; KIM, K.; SELVAKUMAR, G.; SAL, T. Beneficial Soil Bacterium *Pseudomonas frederiksbergensis* OS261 Augments Salt Tolerance and Promotes Red Pepper Plant Growth. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 9. 2017.

CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, p. 117-121. 2000.

COUTO, E. A. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; KATH, J.; HOMIAK, J. A.; PUERARI, H. H. Boron and zinc inhibit embryonic development, hatching and reproduction of *Meloidogyne incognita*. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science**, v. 66, n. 4, p. 346-352, 2016.

DEGENKOLB, T.; VILCINSKAS, A. Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as an alternative for biological control. Part I: metabolites from nematophagous ascomycetes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 9, p. 3799-3812. 2012.

DELGADO, L.E. ; MORALES, R. G. The herbaceous inject in tomato: phytotechnical alternative for the control of nematodes. **Universidad & Ciencia**. v. 6, p. 10-18. 2016.

DELGADO-POVEDANO, M. D. M.; SÁNCHEZ DE MEDINA, V.; BAUTISTA, J.; PRIEGO-CAPOTE, F.; CASTRO, M. D. Tentative identification of the composition of *Agar-*

icus bisporus aqueous enzymatic extracts with antiviral activity against HCV: A study by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high resolution mode. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p. 403-419, 2016.

DÍEZ, R. M.A.; LÓPEZ, P. J.A.; URBANO, T. P.; BELLO, P. A. **Biodesinfección de suelos y manejo agronómico**. 10° Edición. Ministro de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, 408 p. 2010.

DJIAN-CAPORALINO, C.; FAZARI, A.; ARGUEL, M. J.; VERNIE, T.; VANDECAS-TEELE, C.; FAURE, I.; BRUNOUD, G.; PIJAROWSKI, L.; PALLOIX, A.; LEFEBVRE, V.; ABAD, P. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 114, n. 3. 2007.

DONG, L.; XU, J.; CHEN, S.; LI, X.; ZUO, Y. Mi-flp-18 and Mi-mpk-1 Genes are Potential Targets for *Meloidogyne incognita* Control. **Journal of Parasitology**, v. 102, n. 2, p. 208-213, 2016.

DORAIS, M.; EHRET, D.L.; PAPADOPOULOS, A.P. Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. **Phytochemistry**, v. 7, p. 231–250. 2008.

EGAMBERDIEVA, D.; JABBOROVA, D.; BERG, G. Synergistic interactions between *Bradyrhizobium japonicum* and the endophyte *Stenotrophomonas rhizophila* and their effects on growth, and nodulation of soybean under salt stress. **Plant Soil**, v. 405, p. 35-45. 2016.

EGAMBERDIEVA, D.; KUCHAROVA, Z.; DAVRANOV, K.; BERG, G.; MAKAROVA, M.; AZAROVA, T.; CHEBOTAR, V.; TIKHONOVICH, I.; KAMILOVA, F.; VALIDOV, S. Z.; LUGTENBERG, B. Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. **Biol Fertil Soils**. v.47, p.197–205. 2011.

FANELA, T. L. M.; BALDIN, E. L. L.; PANNUTI, L. E. R.; CRUZ, P. L.; CROTTI, A. E. M.; TAKEARA, R.; KATO, M. J. Lethal and Inhibitory Activities of Plant-Derived Essential Oils Against *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) Biotype B in Tomato. **Neotropical Entomology**. v.45, n. 2, p. 201-210. 2016.

FAOESTAT (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA), DIRECCIÓN DE ESTADÍSTICA.FAOSTAT. 2016. Consultado online. Disponible em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES E.A.; DIAS-ARIEIRA C.R. **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. 1° Edição. Univesidade Federal de Viçosa, 304 p. 2012.

FERRAZ L. C. C. B.; BROWN D. J. F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. **Sociedade Brasileira de Nematologia**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro / CCTA, 2016.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FORGE, T.; KENNEY, E.; HASHIMOTO, N.; NEILSEN, D.; ZEBARTH, B. Compost and

poultry manure as preplant soil amendments for red raspberry: Comparative effects on root lesion nematodes, soil quality and risk of nitrate leaching. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 223, n. 1. p. 48-58. 2016.

FOURIE, H.; AHUJA, P.; LAMMERS, J.; DANEEL, M. Brassicacea-based management strategies as an alternative to combat nematode pests: A synopsis. **Crop Protection**, v. 80, n. 1, p. 21-40. 2016.

FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R. D.; FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. 8° Edición. Universidad Federal de Viçosa, centro de ciências agrarias, departamento de Fitopatologia. Editora: Universidad Federal de Viçosa, 92 p. 2014.

GAMBOA, J. H.; JIMÉNEZ, N. N.; PÁEZ, L. A.; CISNEROS, M. G.; ARMENDÁRIZ, D. L.; TORRES, R. Los hongos de la pudrición blanca involucrados en la fertilidad del suelo. **Vidsupra**. v. 7, p. 22-25. 2015.

GARCÍA-DELGADO, C.; YUNTA, F.; EYMAR, E. Bioremediation of multi-polluted soil by spent mushroom (*Agaricus bisporus*) substrate: Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation and Pb availability. **Journal of Hazardous Materials**, v. 300, n. 1, p. 281-288. 2015.

GEA, F.J.; LAINEZ, M.C.; NAVARRO, M.J.; SANTOS, M.; TELLO, J.C. Eficacia del té de compost elaborado con sustratos pots-cultivo de hongos comestibles sobre la mole seca (*Verticillium fungicola*). **Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados**, v. 1, n. 4, p. 186. 2012.

GERSZBERG, A.; HNATUSZKO-KONKA, K.; KOWALCZYK, T.; KONONOWICZ, A. K. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 120, n. 3, p. 881-902, 2015.

GHORBANI, R.; POOZESH, V.; KHORRAMDEL, S. Tomato Production for Human Health, Not Only for Food Organic Fertilisation, Soil Quality and Human Health. volume 9 of the series Sustainable **Agriculture Reviews**, v. 1, p. 187-225. 2012.

GIMENEZ A. P. Reutilización del sustrato agotado en la producción de hongos comestibles cultivados. **ITEA**, v. 104, n. 3, p. 360-368. 2008.

GONÇALVES, F. J. T.; BARBOSA, F. G.; LIMA, J. S.; COUTINHO, I. B. L.; OLIVEIRA, F. C.; ROCHA, R. R.; NETO, M.A. Antagonist activity of the essential oil lippia alba (mill.) n. e. brown (Verbenaceae) on *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 149-156. 2016.

GUZMAN, P. O. A.; CASTAÑO, Z. J.; VILLEGAS, E.B. Principales nematodos fitoparasitos y sintomas ocasionados en cultivos de importancia economica. **Agron**, v. 20, n. 1. p. 31-50. 2012.

HASHEM, M.; ELYOUSR, K. A. A. Management of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combinations of different biocontrol organisms. **Crop Protection**. v. 30, p. 285-292. 2011.

HELENO, S. A.; PRIETO, M. A.; BARROS, L.; RODRIGUES A.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. F. R. Optimization of microwave-assisted extraction of ergosterol from *Agaricus bisporus* L. by-products using response surface methodology. **Food and Bioprocess Processing**, v. 100, n. 1, p. 25-35. 2016.

HERBERT-DOCTOR, L. A.; SAAVEDRA-AGUILAR, M.; VILLARREAL, M. L.; CARDOSO-TAKETA, A.; VITE-VALLEJO, O. Insecticidal and Nematicidal Effects of *Agave tequilana* Juice against *Bemisia tabaci* and *Panagrellus redivivus*. **Southwestern Entomologist**, v. 41, n. 1, p. 27-40. 2016.

HERNÁNDEZ-OCHANDÍA, D.; ARIAS, Y.; GÓMEZ, L.; PETEIRA, B.; MIRANDA, I.; RODRÍGUEZ, M. G. ELEMENTOS del ciclo de vida de población cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en *Solanum lycopersicum* L. **Proteccion vegetal**, v. 27, n. 3, p. 188-193. 2012.

HUANG, W. K.; CUI, J. K.; LIU, S. M.; KONG, L. A.; WU, Q. S.; PENG, H.; HE, W. T.; SUN, J. H.; PENG, D. L. Testing various biocontrol agents against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in cucumber plants identifies a combination of *Syncephalastrum racemosum* and *Paecilomyces lilacinus* as being most effective. **Biological Control**. v. 92, p. 31–37. 2016.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção agrícola municipal-cultivos temporales. Consultado online: http://www.cidades.ibge.gov.br/comparamun/compara.php?lang=_ES&coduf=41&idtema=137&codv=v141&search=parana|matinhos|sintesis-de-las-informaciones-2016.

IBRA

HIM, K. S.; TRABOULSI, A. F.; EL-HAJ, S. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. **Phytopathologic Mediterranea**. v. 45, p. 238–246. 2006.

INSUNSA, V.; ALSTRÖM, S.; ERIKSSON, B. Root bacteria from nematicidal plants and their biocontrol potential against trichodorid nematodes in potato. **Plant and Soil**. n. 241, p. 271–278. 2002.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**. v.60, p. 969-976, 1970.

KANGUSSÚ, D. G.; CAMPOS D. V.B.; BARREIROS, C. S.; GERALDES, T. W.; MOREIRA, V. J. H. **Manual de métodos de análise de solos**. EMBRAPA. Rio de Janeiro, 2º Edição, 230 p. 2011.

KAYANI, M.Z.; MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M.A.; HAQUE, M.I. Infestation assessment of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) associated with cucumber in the Pothowar region of Pakistan. **Crop Protection**. v. 47, p. 49-54. 2013.

KHAN, A.; WILLIAMS, K. L.; NEVALAINEN, H. K. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. **Biological Control**. v. 31, p. 346-352. 2004.

KWAK, A. M.; MIN, K. J.; LEE, S. Y.; KANG, H. W. Water extract from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus* suppresses bacterial wilt disease of tomato. **Mycobiology**, v. 43, n. 3, p. 311-318. 2015.

LAQUALE, S.; CANDIDO, V.; AVATO, P.; ARGENTIERI, M. P.; D'ADDABBO, T. Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. **Annals of Applied Biology**, v. 167, n. 2, p. 217-224. 2015.

LEE, S. K.; LEE, K. T.; PARK, Y. B.; JIN, G. H.; KA, K. H.; SEO, S. T. Nematicidal effect of *Sparassis latifolia*-derived sparassol and disodium sparassol against *Bursaphelenchus xylophilus*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 1, p. 81-84. 2016.

LIN, B. R.; ZHUO, K.; WU, P.; CUI, R. Q.; ZHANG, L. H.; LIAO, J. L. A. Novel Effector Protein, MJ-NULG1a, Targeted to Giant Cell Nuclei Plays a Role in *Meloidogyne javanica* Parasitism. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 26, n. 1, p. 55-66, 2013.

LIU, J.; LIANG, J.; KAN, J.; JIN, C. H. In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Food and Chemical Toxicology**, v.51, p. 310-316. 2013.

LIU, Z.; GRIFFIN, T. W.; KIRKPATRICK, T. L.; MONFORT, W. S. Spatial econometric approaches to developing site-specific nematode management strategies in cotton production. **Precision Agriculture**, v. 16, n. 5, p. 587-600. 2015.

LOPES, R. X.; ZIED, D. C.; MARTOS, E. T.; SOUZA, R. J.; SILVA, R.; DIAS, E. S. Application of spent *Agaricus subrufescens* compost in integrated production of seedlings and plants of tomato. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 4, n. 3, p. 211-218. 2015.

LOURENÇO-TESSUTTI, I. T.; SOUZA, J. D. A., JR.; MARTINS-DE-SA, D.; VIANA, A. A. B.; CARNEIRO, R. M. D. G.; TOGAWA, R. C.; DE ALMEIDA-ENGLER, J.; BATISTA, J. A. N.; SILVA, M. C. M.; FRAGOSO, R. R.; GROSSI-DE-SA, M. F. Knock-down of heat-shock protein 90 and isocitrate lyase gene expression reduced root-knot nematode reproduction. **Phytopathology**, v. 105, n. 5, p. 628-637, 2015.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v. 25 , P. 244-249. 1999.

MAIA, C. M. B. F. Efeito do resíduo exaurido do cultivo de cogumelos sobre a germinação de sementes de *Eucalyptus dunnii*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 36, p. 81-87. 1998.

MAO, L.; YANG, Q.; YAN, D.; LI, Y.; OUYANG, C.; GUO, M.; CAO, A. Flame soil disinfection: A novel, promising, non-chemical method to control soilborne nematodes, fungal and bacterial pathogens in China. **Crop Protection**, v. 81, n. 1, p. 90-94. 2016.

MEDINA, E.; PAREDES, C.; MURCIA, M. D. P.; BUSTAMANTE, M. A.; MORAL, R. Spent mushroom substrates as component of growing media for germination and growth of horticultural plants. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 4227-4232. 2009.

MILTON, B. C.; MEGIOLARO, F. Comparação de diferentes protocolos de extração de DNA de bactérias para utilização em RAPD-PCR. **Unoesc & Ciência – ACET**, v. 3, n. 1, p. 121-130, 2012.

MOLINARI, S. Systemic acquired resistance activation in solanaceous crops as a management strategy against root-knot nematodes. **Pest Management Science**. v. 72, n. 3, p. 888-896. 2016.

MONTEIRO, T. S. A.; NASU, É G. C.; GUIMARÃES, C. P.; NEVES, W. S.; MIZOBUTSI, E. H.; FREITAS, L. G. Inoculum reduction of *Aphelenchoides besseyi* in *Brachiaria brizantha* seeds treated with essential oils. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 7, p. 1149-1154. 2014.

MOREIRA, F. J. C.; SANTOS, C. D. G.; INNECCO, R.; SILVA, G. S. Alternative control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) race 2 with essential oils in soil. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 207-213. 2105.

MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A.; KAYANI, M. Z.; ASLAM, M. N. Evaluation of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in okra cultivars. **Crop Protection**, v. 56. 2014.

NAKATSUKA, H.; ODA, M.; HAYASHI, Y.; TAMURA, K. Effects of fresh spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* on soil micromorphology in Brazil. **Geoderma**, v. 269, n. 1, p. 54-60. 2016.

NAZ, I.; SAIFULLAH; PALOMARES-RIUS, J. E.; KHAN, S. M.; ALI, S.; AHMAD, M.; ALI, A.; KHAN, A. Control of Southern root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood on tomato using green manure of *Fumaria parviflora* Lam (Fumariaceae). **Crop Protection**, v. 67. 2015.

NETO, A. C. A.; ARAÚJO, P. C.; SOUZA, W. C. O.; MEDEIROS, J. G. F.; AGUIAR, A. V. M. Óleo essencial de anis na incidência e controle de patógenos em sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* mill.). **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**. v. 7, n.1, p. 170-176. 2012.

NGALA, B. M.; VALDES, Y.; DOS SANTOS, G.; PERRY, R. N.; WESEMAEL, W. M. L. Seaweed-based products from *Ecklonia maxima* and *Ascophyllum nodosum* as control agents for the root-knot nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne hapla* on tomato plants. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 3, p. 2073-2082. 2016.

NTALLI, N.G.; FERRARI, F.; GIANNAKOU, L.; SPIROUDI, U.M. Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. **Pest Management Science**, v. 67, p. 341-351, 2011.

OKA, Y. Nematicidal activity of *Verbesina encelioides* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and effects on plant growth. **Plant Soil**. v. 355, p. 311-322. 2012.

OKA, Y.; NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; YANIV, Z.; SPIEGEL, Y. Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components Against the Root-Knot

Nematode. **Nematology**, v. 90, n. 7, p. 710-715. 2000.

OKA, Y.; SHUKER, S.; TKACHI, N. Nematicidal activity of allyl bromide and dibromo (nitro) methane under laboratory conditions. **Pest Management Science**, v. 72, n. 1, p. 57-66. 2016.

OVCARENKO, I.; LINDSTROEM, L.; SAIKKONEN, K.; JAUHAINEN, L.; KASEVA, J.; VANNINEN, I. Preconditioning of the generalist herbivore *Trialeurodes vaporariorum* to greenhouse monocultures and its subsequent performance on wild polycultures. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, v. 159, n. 1, p. 1-16. 2016.

PARDO-GIMÉNEZ, A.; PARDO-GONZÁLEZ, J. E. Evaluation of casing materials made from spent mushroom substrate and coconut fibre pith for use in production of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.6, n.4, p. 683-690. 2008.

PARK, J. O.; HARGREAVES, J. R.; MCCONVILLE, E. J.; STIRLING, G. R.; GHISALBERTI, E. L.; SIVASITHAMPARAM, K. Production of leucinostatin and nematicidal activity of Australian isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. **Letters in Applied Microbiology**. v. 38, p. 271–276. 2004.

PELKMANS, J. F.; VOS, A. M.; SCHOLTMEIJER, K.; HENDRIX, E.; BAARS, J. J. P.; GEHRMANN, T.; REINDERS, M. J. T.; LUGONES, L. G.; WÖSTEN, H. A. B. The transcriptional regulator *c2h2* accelerates mushroom formation in *Agaricus bisporus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 16, p. 2016.

PIEDRAHITA, O. A. G.; ZAPATA, J. C.; ESTRADA, B. V. Principales nematodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica. **Agronomía**. v. 20, p. 38-50. 2012.

QIAO, K.; LIU, X.; WANG, H.; XIA, X.; JIC, X.; WANG, K. Effect of abamectin on root-knot nematodes and tomato yield. **Pest Management Science**. v. 68, p. 853-857. 2012.

QIAO, K.; DUANB, H.; WANGC, H.; WANGA, Y.; WANGA, K.; WEID, M. The efficacy of the reduced rates of 1,3-D + abamectin for control of *Meloidogyne incognita* in tomato production in China. **Scientia Horticulturae**. v. 178, p. 248–252. 2014.

RINKER, D.L. Usos del Sustrato Degradado de los Hongos. **Cultivo, Mercadotecnia e Inocuidad Alimenticia de Agaricus bisporus**, v. 1, n. 1, p. 135-150. 2007.

RIBAS, L.C.C.; MENDONÇA, M.M.; CAMELINI, C.M.; SOARES, C.H.L. Use of spent mushroom substrates from *Agaricus subrufescens* (syn. *A. blazei*, *A. brasiliensis*) and *Lentinula edodes* productions in the enrichment of a soil-based potting media for lettuce (*Lactuca sativa*) cultivation: Growth promotion and soil bioremediation. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 4750–4757. 2009.

RONCATO, S. C.; STANGARLIN, J. R.; GONÇALVES, A. C.; KUHN, O. J.; GONÇALVES, E. D.; DILDEY, O. A.; FLORES, E. L. Nematicidal activity of crambe extracts on *Meloidogyne* spp. *Ciencias Agrarias*. v. 37, p. 1857-1870. 2016.

ROS, M.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, M. T.; LACASA, A.; FERNANDEZ, P.; PASCUAL, J. P. Effects of biosolarization as methyl bromide alternative for *Meloidogyne incognita* control on quality of soil under pepper. **Biol Fertil Soils**. v. 45, p. 37-44. 2008.

ROYSE, D.J. Consumo y Producción de *Agaricus bisporus* en el mundo. **Cultivo, mercado-tecnia e inocuidad alimenticia de *Agaricus bisporus***, v.1, n. 1, p. 7-17. 2007.

RYAN, R. P.; MONCHY, S.; CARDINALE, M.; TAGHAVI, S.; CROSSMAN, L.; AVISON, M. B.; BERG, G.; DANIEL VAN DER LELIE, D. V.; DOW, J. M. The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. **Nature**, v. 7, p. 514-525. 2009.

SANTIAGO, D. C.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F.; RIBEIRO, E. R.; BRUNO CAETANO GOMES, B. C.; SANTORO, P. H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. **Ciencia Rural**. v. 36, n. 4, pp. 5. 2006.

SENDI, H.; MOHAMED, M. T. M.; ANWAR, M. P.; SAUD, H. M. Spent mushroom waste as a media replacement for peat moss in Kai-Lan (*Brassica oleracea* var *alboglabra*) production. **The Scientific World Journal**, n. 1, p. 8. 2013.

SHARMA, A.; SHARMA, S.; DALELA, M. Nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* 6029 cultured on Karanja cake medium. **Microbial Pathogenesis**. v. 75, p. 16-20. 2014.

SHARMA, I. P.; SHARMA, A. K. Effective control of root-knot nematode disease with *Pseudomonad rhizobacteria* filtrate. **Rhizosphere**. n. 3, p. 123–125. 2017.

SHARMA, I. P.; SHARMA, A. K. Physiological and biochemical changes in tomato cultivar PT-3 with dual inoculation of mycorrhiza and PGPR against root-knot nematode. **Symbiosis**, p. 1-9, 2016.

SILVA, A. C.; BASTOS, A. R.; ZAMBOLIN, E. M.; RIBEIRO, F. X.; CARVALHO G. A.; CARVALHO, J. G.; ZAMBOLIN, L.; LIMA, L. A.; ALVARENGA, M. A.; FURLANI, P. R.; SOUZA, R. A. M.; FAQUIN, V. Tomate-Produção em campo, casa-de-vegetação e em hidroponia. Editor Marco Antonio Rezende Alvarenga. Lavras, Editotra UFLA. 2004.

SILVA, F. G. E.; MENDES, F. R.S.; ASSUNÇÃO, J. C.C.; SANTIAGO, G. M. P.; BEZERRA, M. A. X.; BARBOSA, F. G.; MAFEZOLI, J.; ROCHA, R. R. Seasonal variation, larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Ruta graveolens* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n. 3, p. 204-209. 2014.

SILVESTRE, A.; CABARET, J. Nematode parasites of animals are more prone to develop xenobiotic resistance than nematode parasites of plants. **Parasite**, v. 11, n. 1, p. 119-129.2014.

SCHMIDT C.S.; ALAVI, M.; CARDINALE, M.; MÜLLER, H.; BERG, G. *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405T promotes plant growth probably by altering fungal communities in the rhizosphere. **Biol Fertil Soils**, v. 48, p. 947–960. 2012.

- SHARMA, A.; SHARMA, S.; DALELA, M. Nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* 6029 cultured on Karanja cake medium. **Microbial Pathogenesis**. v. 75, p. 16-20. 2014.
- SOUSA, R.M.; ROSA, J.S.; SILVA, C.A.; ALMEIDA, M.T.; NOVO, M.T.; CUNHA, A.C.; FERREIRA, M.F. Larvicidal, molluscicidal and nematicidal activities of essential oils and compounds from *Foeniculum vulgare*. **Pest. Science**, v. 88, p. 413-426, 2015.
- SUBRAMANIAN, P.; MAGESWARI, A.; KIM, K.; LEE, Y.; SA, T. Psychrotolerant Endo-phytic *Pseudomonas* sp. Strains OB155 and OS261 Induced Chilling Resistance in Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* Mill.) by Activation of Their Antioxidant. **Molecular Plant Microbe Interactions**. v. 28, p. 1073-1083. 2015.
- SUN, M. H.; GAO, L.; SHI, Y. X.; LI, B. J.; LIU, X Z. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. Eggs and females in China and their biocontrol potential. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 93, p. 22–28. 2016.
- TIMPER, P.; LIU, C.; DAVIS, R. F.; WU, T. Influence of crop production practices on *Pasteuria penetrans* and suppression of *Meloidogyne incognita*. **Biological Control**, v. 99, n. 1, p. 64-71. 2016.
- VAN TAM, N.; WANG, C. H. Use of Spent Mushroom Substrate and Manure Compost for Honeydew Melon Seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 2, p. 417-424. 2015.
- WORWOOD, V,A. The Fragrant Mind: Aromatherapy for Emotional and Mental Well-being, 202 p. 1995.
- XU, X.; XIA, L.; CHEN, W.; HUANG. Q. Detoxification of hexavalent chromate by growing *Paecilomyces lilacinus* XLA. **Environmental Pollution**. n. 225, p. 47-54. 2017.
- YANG, Z.; YUAN, L.; DUAN, Y. The investigation and prevention of tomato root knot nematode in Yunnan Yuanmou. **Plant Protection**, v. 1, n.1, P. 44-45. 2016.
- YU, Z.; ZHANG, Y.; LUO, W.; WANG, Y. Root colonization and effect of biocontrol fungus *Paecilomyces lilacinus* on composition of ammonia-oxidizing bacteria, ammonia-oxidizing archaea and fungal populations of tomato rhizosphere. **Biol Fertil Soils**. v. 52, p. 343-351. 2015.
- ZACHOW, C.; PIRKER, H.; WESTENDORF, C.; TILCHER, R.; BERG, G. The *Caenorhabditis elegans* assay: a tool to evaluate the pathogenic potential of bacterial biocontrol agents. **European Journal Plant Pathology**, v.125, p. 367–376. 2009.
- ZAINAB, M. A.; SHAHNAZ, D. M.; MUHAMMAD, J. Z. Effect of local tree seeds in the control of root knot nematode *Meloidogyne javanica* (treub) chitwood and growth promotion of chickpea (*Cicer arietinum* l.) and mung bean *Vigna radiata* l.). *Acta Agrobotanica*. v. 63, n. 197-203. 2010.
- ZHOU, L.; YUEN, G.; WANG, Y.; WEI, L.; JI, G. Evaluation of bacterial biological control agents for control of root-knot nematode disease on tomato. **Crop Protection**, v. 18, n. 1, p. 8-12. 2016.

