

CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES DE *Arthrobotrys* CORDA EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E DOIS AMBIENTES*

GROWTH AND SPORULATION OF TWO SPECIES OF *Arthrobotrys* CORDA IN DIFFERENT CULTURE MEDIA AND TWO ENVIRONMENTS

Pedro Luiz Martins SOARES¹; Márcia de Holanda NOZAKI²;
Bruno Flávio F. BARBOSA¹; Jaime Maia dos SANTOS¹; José Carlos BARBOSA³

1. Laboratório de Nematologia, Departamento de Fitossanidade, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV, Jaboticabal, SP, Brasil. pedrolms@fcav.unesp.br; 2. Laboratório de Fitopatologia, Departamento de Fitossanidade, FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil; 3. Departamento de Ciências Exatas – UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil. * Parte da tese do primeiro autor.

RESUMO: As pesquisas sobre o controle biológico de nematóides com fungos nematófagos têm se intensificado nos últimos anos. O conhecimento das condições ecológicas adequadas ao crescimento e esporulação desses fungos é um pré-requisito para obtenção de culturas puras que atendam à demanda para formulação desses organismos. Com o objetivo de avaliar o crescimento micelial e a esporulação de *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* em dois ambientes (B.O.D. a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e ambiente do Laboratório), foram testados 20 meios de cultura preparados com materiais comumente encontrados nas comunidades e meios industrializados tradicionais, tais como ágar micológico, BDA. e CMA. Os meios foram testados em placas de Petri, sendo que o crescimento micelial dos fungos foi avaliado diariamente, durante seis dias. A esporulação foi mensurada estimando-se o número de conídios/placa, ao final do experimento. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, seguindo um esquema fatorial $20 \times 2 \times 2$, correspondendo a 20 meios, dois fungos e dois ambientes, com cinco repetições. A análise de variância dos dados evidenciou diferença estatística significativa pelo Teste F, a 1% de probabilidade, para a interação meio \times ambiente \times fungo. Cinquenta por cento dos meios testados foram adequados para o crescimento micelial de *A. musiformis*, não diferindo estatisticamente entre si, a saber: meio de farinha de mandioca (FM), polvilho doce (PD), “corn meal ágar” (CMA), aveia em flocos finos (AFF), ágar-água + dextrose (AA+D), ágar micológico (AM), batata dextrose ágar (BDA), farinha de milho (FMI), farinha de trigo (FT) e trigo para quibe (TK). Para *A. oligospora*, 75% dos meios testados propiciaram o crescimento máximo do fungo, no período, quais sejam: AFF, AM, FM, PD, CMA, AA+D, BDA, FT, TK, decoto de arroz (AAZ), arroz em grãos (AZG), arroz triturado (AZT), farinha de rosca (FR), farinha de aveia (FA), aveia em flocos grossos (AFG) e fubá (FU). Em relação à esporulação, os meios que se destacaram para *A. musiformis*, em ordem decrescente, foram: FR, TK, AFG, BDA, FA, AFF, AM, FMI, AZT e FM, variando entre $1,01 \times 10^6$ e $1,4 \times 10^4$ conídios/placa. Para a esporulação de *A. oligospora* o meio CMA propiciou a máxima esporulação com média estimada de $5,7 \times 10^6$ conídios/placa. No geral, os melhores meios para o crescimento micelial e esporulação de *A. musiformis*, também o foram para *A. oligospora*, mas alguns que se destacaram para *A. oligospora* não foram eficazes para o crescimento micelial ou a esporulação de *A. musiformis*, indicando que o isolado de *A. musiformis* utilizado é mais exigente que o de *A. oligospora*. Evidências do estudo indicam que, em Jaboticabal, o crescimento e a esporulação desses fungos não demandam câmaras especiais, bastando apenas adaptações de ambientes do laboratório visando o bloqueio da luz.

PALAVRAS-CHAVE: Fungos nematófagos. Controle biológico. Fungos predadores. Agentes de controle biológico. Cultivo in vitro.

INTRODUÇÃO

Uma grande diversidade de fungos antagonistas que ocorre naturalmente no solo é capaz de se alimentar de nematóides. Esses fungos são também conhecidos como fungos nematófagos e podem ser classificados, de acordo com a estratégia de ação, em ectoparasitos ou predadores, parasitos de ovos ou ovidas, endoparasitos e aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides (MORGAN-JONES; RODRÍGUEZ-KÁBANA, 1987; JANSSON, 1982). Destes, os predadores são os mais promissores como agentes do controle biológico de nematóides. Destacam-se pela facilidade de se estabelecerem no solo e pelas suas habilidades

saprofíticas, além da facilidade de crescimento in vitro, despertando o interesse de vários pesquisadores no mundo (GRAY, 1988; RODRÍGUEZ-KÁBANA, 1991). Entre os fungos nematófagos predadores, as espécies de *Arthrobotrys* Corda têm sido o alvo de muitas pesquisas ao redor do mundo (CAYROL et al., 1978; SLEPETIENE et al., 1993; VOYOUKALOU, 1993; DIAS; FERRAZ, 1994).

Após o isolamento e constatação da patogenicidade desses fungos, frente às espécies de nematóides de importância econômica para uma dada região, a formulação em larga escala é uma etapa primordial para a adoção desse recurso no manejo de nematóides a campo. A obtenção de culturas puras dos fungos em grandes quantidades é imprescindível ao

processo, já que expressivos volumes de substratos devem ser inoculados com os fungos para se obter a formulação desejada. Meios de cultura que proporcionem rápido crescimento e esporulação dos fungos são muito importantes para viabilizar o processo de produção de formulações desses agentes e fazer com que essa alternativa possa se tornar uma tecnologia inserida no processo produtivo de alimentos, assim como nas áreas urbanas infestadas de parques e jardins. A possibilidade de adição de macro e micronutrientes com a formulação dos fungos aumenta as oportunidades de se agregar valor ao produto e diminuir os custos operacionais com as fertilizações, além do fato de que a própria matéria orgânica utilizada na formulação também pode melhorar as condições físicas do solo e, por si só, favorecer o crescimento das plantas.

Os meios de cultura devem apresentar características que viabilizem a sua utilização, tais como: serem de composição simples e de fácil preparação; favorecerem o rápido crescimento e esporulação dos fungos, não modificarem as características básicas dos fungos, notadamente quanto à patogenicidade e agressividade aos nematóides-alvo e terem custo igual ou menor que os meios industrializados.

Atualmente, são poucas as opções de meios de cultura, utilizados para multiplicação desses fungos em placas de Petri. Em geral, os mais utilizados são: BDA (batata dextrose agar), BDA + peptona, CMA (corn meal agar), fubá + ágar e YPSS (yeast starch agar medium), conforme menção de Dias e Ferraz (1993); B.D.A. e YPSS (MACHADO; CAMPOS, 1997); B.S.A. (batata sacarose ágar), mencionado por Castro et al. (2000). Vários desses meios utilizados são industrializados. Quando não, os produtos utilizados na sua composição, podem ser sintéticos. A utilização de meios sintéticos/industrializados pode, em alguns casos, apresentar limitações, já que é possível haver dificuldades técnicas no cultivo de alguns desses organismos nesses meios (VAN GUNDY, 1985).

Na literatura, são encontrados trabalhos confirmando que a temperatura de 25°C tem se mostrado a mais favorável ao crescimento de diversos fungos nematófagos (TEDFORD, 1995; VELVIS; KAMP, 1996; CASTRO et al., 2000). Cooke (1963) obteve maior crescimento micelial para um isolado de *A. musiformis* Drechsler a 25°C. Dias e Ferraz (1993) verificaram que, para cinco isolados de cinco espécies de *Arthrobotrys*, o meio YPSS ágar e a temperatura de 25°C, proporcionaram maior crescimento micelial e esporulação em relação aos demais meios testados. Apesar dos isolados serem de espécies diferentes e algum deles serem provenientes de regiões diferentes, todos se comportaram semelhantes quanto à temperatura. Castro et al. (2000) também constataram que a temperatura ótima, que permitiu a obtenção da

maior massa micelial de um isolado de *Arthrobotrys musiformis* foi 25 °C.

Em decorrência destes fatos, buscou-se neste trabalho, selecionar produtos de baixo custo e facilmente obtidos no comércio local para elaboração de meios de cultura visando os cultivos de *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* Fresenius, comparados a alguns meios industrializados (ágar micológico, CMA e BDA), em dois ambientes, quais sejam B.O.D. a 25 °C e à temperatura ambiente do Laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias), Campus de Jaboticabal, SP.

Os isolados utilizados foram um de *Arthrobotrys musiformis* e um de *A. oligospora*, obtidos da coleção de fungos nematófagos do Laboratório de Nematologia, oriundos das regiões de Ipameri – GO e Itiquira – MT, respectivamente.

Para avaliar o efeito da temperatura sobre o crescimento micelial e esporulação desses dois fungos nematófagos, os isolados foram submetidos a dois ambientes, no escuro, a saber: ambiente controlado (B.O.D. a 25 °C) e nas condições do ambiente do Laboratório onde as médias das temperaturas mínimas e máximas no período foram 24,9°C e 26,9°C, respectivamente.

Para cada regime de temperatura, foram utilizados vinte diferentes meios de cultura, sendo estes, com as respectivas composições para cada litro de meio: ágar água + dextrose 2% (AA+D: 20 g de ágar e 20 g de dextrose), decoto de arroz (AAZ: água de 60 g de arroz fervido, 20 g de ágar e 20 g de dextrose), aveia em flocos finos (AFF: 60 g de aveia em flocos finos, 20 g de ágar e 20 g de dextrose), aveia em flocos grossos (AFG: 60 g de aveia em flocos grossos, 20 g de ágar e 20 g de dextrose), ágar micológico (AM - meio industrializado da VETEC[®]), amido de milho (AMA: 60 g de maisena, 20 g de ágar e 20 g de dextrose), arroz em grãos (AZG: 60 g de grãos de arroz cozido, 20 g de ágar e 20 g de dextrose), arroz triturado (AZT: 60 g de arroz cozido e triturado, 20 g de ágar e 20 g de dextrose), batata-dextrose-ágar (BDA - meio industrializado da BIOLIFE[®]), batata-dextrose-ágar mais levedura (BDA+L: 200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 50 g de levedura), corn meal agar (CMA - meio industrializado da GIBCO[®]), farinha de aveia (FA: 60 g de farinha de aveia, 20 g de dextrose e 20 g de ágar), farinha de mandioca (FM: 60 g de farinha de mandioca, 20 g de dextrose e 20 g de ágar), farinha de milho (FMI: 60 g de farinha de milho, 20 g de dextrose e 20 g de ágar), farinha de rosca (FR: 60 g de farinha de rosca, 20 g de

dextrose e 20 g de ágar), farinha de trigo (FT: 60 g de farinha de trigo, 20 g de dextrose e 20 g de ágar), fubá (FU: 60 g de fubá, 20 g de dextrose e 20 g de ágar), polvilho azedo (PA: 60 g de polvilho azedo, 20 g de dextrose e 20 g de ágar), polvilho doce (PD: 60 g de polvilho doce, 20 g de dextrose e 20 g de ágar) e trigo para quibe (TK: 60 g de trigo para quibe, 20 g de dextrose e 20 g de ágar).

Cada um dos meios foram pré-aquecidos em banho-maria e autoclavados à 120 °C e 1 kgf/cm² por 20 minutos.

Foi utilizado o meio BDA para o desenvolvimento da colônia micelial dos fungos durante 15 dias. Discos miceliais de 5 mm de diâmetro, obtidos dos bordos da colônia com furador de metal(, dos bordos da colônia,) foram transferidos para o centro de cada placa de Petri descartável, contendo cada um dos meios mencionados anteriormente, com auxílio de uma alça de metal, em condições assépticas e, a seguir, foram incubados nas condições mencionadas.

Com uma caneta de transparência para retro-projetor, foram feitos traços a partir do centro até o bordo das placas. As medições do diâmetro do crescimento micelial, sobre os traços previamente marcados, foram feitas com auxílio de uma régua, diariamente, até que o crescimento do micélio de um dos isolados, em algum dos tratamentos, atingisse as bordas da placa de Petri. Além dessa avaliação, ao término das medições do crescimento micelial, foi realizada a avaliação da esporulação por meio da contagem de conídios em câmara de Newbauer com auxílio de um microscópio óptico composto com aumentos de 200 X. Uma suspensão de cada repetição em cada tratamento foi obtida por meio da adição de 10 mL de água destilada esterilizada à placa e o revolvimento das colônias com auxílio de um pincel.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, seguindo o esquema fatorial 20 x 2 x 2 com cinco repetições para cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão as análises de variância dos dados relativos ao crescimento micelial de *A. musiformis* e *A. oligospora* nas condições do estudo durante 6 dias, assim como a interação meio x ambiente x fungo.

No primeiro dia de avaliação, a análise de variância do crescimento micelial dos fungos nos diferentes meios apresentou diferença estatística significativa a 1% de probabilidade (Tabela 1). A maior média do crescimento micelial foi obtida em

AA+D com 0,92 cm, para *A. musiformis*, apresentando diferença estatística significativa pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade dos demais meios com exceção de AFF, AMA, AZG, AZT, BDA, CMA, FA, FM, FT, PD e TK. Com relação a *A. oligospora*, a maior média foi obtida no meio AZG, com 0,63 cm, diferindo estatisticamente dos demais meios, exceto para AAZ. Quanto à comparação entre os ambientes, não houve diferença estatística significativa, para *A. musiformis*, mas houve para *A. oligospora* a 1% de probabilidade, com a maior média de 0,23 cm para o crescimento no ambiente do laboratório. Na interação meio x ambiente, não houve diferença estatística significativa para *A. musiformis*, mas houve para *A. oligospora*, a 1% de probabilidade. Para a comparação entre os fungos, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que *A. musiformis* apresentou maior média de crescimento com 0,39 cm. Na comparação entre os ambientes, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com maior média 0,33 cm para o laboratório. Quanto às interações, apenas para fungo X meio foi significativo a 1% de probabilidade (Tabela 1).

Para o segundo dia de avaliação, a análise de variância do crescimento micelial dos fungos nos diferentes meios apresentou diferença estatística significativa a 1 % de probabilidade. Para *A. musiformis*, o meio que propiciou a maior média do crescimento micelial foi FA com 2,82 cm. Contudo, não diferiu de AFF, AFG, AM, BDA, FM, FT, PD e TK, mas diferiu dos demais. Para *A. oligospora*, a melhor média foi obtida no meio AZG com 2,63 cm, não diferindo apenas de AZT. Entretanto, diferiu dos demais meios testados. Quanto à comparação entre os ambientes, também se constatou diferença estatística significativa a 1 % de probabilidade. A comparação entre as médias pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade evidenciou que ambos os fungos cresceram mais no ambiente do Laboratório que na B.O.D., sendo que para *A. musiformis* a média foi de 2,20 cm e para *A. oligospora* foi de 1,92 cm. Para a interação meio x ambiente, também houve diferença significativa, sendo a 1% para *A. musiformis* e a 5% para *A. oligospora*. Para a comparação entre os fungos, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que a maior média foi obtida para *A. musiformis* com 2,05 cm. Na comparação entre os ambientes, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que maior média foi obtida para o laboratório. Quanto às interações, apenas para fungo x meio foi significativo a 1% de probabilidade (Tabela 1).

Tabela 1. Comparações de médias do crescimento micelial (cm) de um isolado de *Arthrobotrys musiformis* (Ipameri – GO) e um de *A. oligospora* (Itiquira – MT) em 20 meios de cultura e dois ambientes (B.O.D. 25 °C e ambiente do Laboratório) no escuro, diariamente, durante seis dias

MEIO (M)	CRESCIMENTO MICELIAL					
	1º DIA		2º DIA		3º DIA	
	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotris oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotris oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotris oligospora</i>
Ágar água + dextrose (AA+D)	0,92 a	0,26 bc	2,10 cdef	2,08 bcde	3,51 cd	4,09 bcdef
Decoto de arroz (AAZ)	0,24 bcd	0,37 ab	1,78 efg	2,25 bc	2,79 ef	4,63 ab
Aveia em flocos finos (AFF)	0,69 abc	0,12 bc	2,78 ab	2,17 bcd	4,42 ab	4,37 bcd
Aveia em flocos grossos (AFG)	0,28 bcd	0,00 c	2,49 abcd	1,88 defg	4,06 abc	4,30 bcde
Ágar micológico (AM)	0,00 d	0,06 bc	2,34 abcde	1,95 cdefg	3,91 bcd	4,19 bcdef
Amido de milho (AMA)	0,39 abcd	0,06 bc	1,11 h	1,41 hi	1,79 h	2,94 g
Arroz em grãos (AZG)	0,46 abcd	0,63 a	1,58 fgh	2,63 a	2,70 efg	5,18 a
Arroz triturado (AZT)	0,42 abcd	0,29 bc	1,37 gh	2,32 ab	2,07 gh	4,70 ab
Batata-dextrose-ágar (BDA)	0,50 abcd	0,00 c	2,40 abcd	1,70 fgh	3,97 abcd	3,52 fg
Batata-dextrose-ágar + Levedura (BDA + L)	0,06 d	0,00 c	1,17 h	0,75 j	2,40 fgh	1,59 h
Corn meal agar (CMA)	0,40 abcd	0,12 bc	2,05 def	1,90 cdefg	3,59 cd	3,55 efg
Farinha de aveia (FA)	0,48 abcd	0,23 bc	2,82 a	2,03 bcdef	4,10 abc	4,11 bcdef
Farinha de mandioca (FM)	0,34 abcd	0,19 bc	2,40 abcd	1,96 cdefg	4,39 ab	4,02 bcdef
Farinha de milho (FMI)	0,23 bcd	0,00 c	2,24 bcde	1,30 i	4,06 abc	2,94 g
Farinha de rosca (FR)	0,31 abcd	0,00 c	1,26 gh	1,63 ghi	2,01 gh	3,73 def
Farinha de trigo (FT)	0,46 abcd	0,25 bc	2,40 abcd	2,14 bcd	4,12 abc	4,42 abcd
Fubá (FU)	0,16 cd	0,06 bc	1,95 def	1,78 efg	3,34 de	3,86 cdef
Polvilho azedo (PA)	0,12 cd	0,00 c	1,35 gh	0,59 j	2,22 fgh	1,09 h
Polvilho doce (PD)	0,54 abcd	0,00 c	2,65 abc	1,70 fgh	4,63 a	3,80 cdef
Trigo para quibe (TK)	0,83 ab	0,30 bc	2,81 a	1,62 ghi	4,50 ab	4,55 abc
Teste F	3,71 **	7,61 **	26,75 **	53,47 **	45,92 **	45,79 **
dms (Tukey 5%)	0,6299	0,3105	0,5670	0,3453	0,7075	0,7563
AMBIENTE (A)						
Laboratório	0,43 a	0,23 a	2,20 a	1,92 a	3,74 a	4,04 a
B.O.D.	0,35 a	0,06 b	1,90 b	1,62 b	3,12 b	3,51 b
Teste F	1,82 ^{NS}	41,28 **	37,71 **	127,45 **	100,58 **	63,92 **
dms (Tukey 5%)	0,1091	0,0538	0,0983	0,0598	0,1226	0,131
INTERAÇÃO						
Teste F (M X A)	0,75 ^{NS}	3,88 **	2,38 **	1,88 *	5,32 **	1,36 ^{NS}
CV (%)	99,11	130,57	17,11	11,95	12,78	12,40
FUNGO (F)						
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	0,39 a		2,05 a		3,43 b	
<i>Arthrobotris oligospora</i>	0,14 b		1,79 b		3,78 a	
Teste F	64,16 **		82,33 **		59,35 **	
dms (Tukey 5%)	0,0606		0,0573		0,0894	

AMBIENTE (A)			
Laboratório	0,33 a	2,08 a	3,89 a
B.O.D.	0,20 b	1,76 b	3,31 b
Teste F	16,40 **	123,57 **	161,03 **
dms (Tukey 5%)	0,0606	0,0573	0,0894
INTERAÇÕES			
Teste F (F X M)	2,82 **	22,90 **	29,77 **
Teste F (F X A)	2,66 ^{NS}	0,39 ^{NS}	1,03 ^{NS}
Teste F (M X A)	1,67 ^{NS}	1,77 ^{NS}	2,59 ^{NS}
Teste F (F X M X A)	1,06 ^{NS}	2,72 ^{NS}	3,83 ^{NS}
CV (%)	113,72	15,13	12,59

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; NS (não significativo).

Tabela 1...Continuação. Comparações de médias do crescimento micelial (cm) de um isolado de *Arthrobotrys musiformis* (Ipameri – GO) e um de *A. oligospora* (Itiquira – MT) em 20 meios de cultura e dois ambientes (B.O.D. 25 1 °C e ambiente do Laboratório) no escuro, diariamente, durante seis dias

MEIO (M)	CRESCIMENTO MICELIAL					
	4º DIA		5º DIA		6º DIA	
	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotris oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotris oligospora</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotris oligospora</i>
Ágar água + dextrose (AA+D)	4,98 b	5,90 cdefg	6,31 bcd	7,62 cdefg	7,96 ab	8,45 a
Decoto de arroz (AAZ)	3,39 cd	6,63 ab	3,80 fg	8,50 a	4,18 f	8,50 a
Aveia em flocos finos (AFF)	5,58 ab	6,07 bcdef	6,63 abcd	7,88 abcde	7,99 ab	8,50 a
Aveia em flocos grssos (AFG)	5,17 b	5,51 efghi	6,15 cd	7,44 defghi	6,82 c	8,43 a
Ágar micológico (AM)	5,38 b	6,14 bcd	6,95 abc	7,82 bcdef	7,96 ab	8,50 a
Amido de milho (AMA)	2,25 f	3,81 j	2,59 h	5,16 j	3,19 g	5,92 c
Arroz em grãos (AZG)	3,20 cde	7,08 a	4,10 efg	8,38 ab	4,71 def	8,50 a
Arroz triturado (AZT)	3,15 cde	6,47 bc	3,83 fg	8,05 abcd	4,90 def	8,50 a
Batata-dextrose-ágar (BDA)	5,51 ab	5,13 hi	6,64 abcd	6,88 i	7,91 ab	8,29 a
Batata-dextrose-ágar + Levedura (BDA + L)	3,75 c	2,48 k	4,61 ef	3,58 k	5,37 de	4,57 d
Corn meal agar (CMA)	5,31 b	5,13 i	6,65 abcd	7,10 ghi	8,15 a	8,40 a
Farinha de aveia (FA)	5,43 b	5,72 defgh	6,34 bcd	7,33 efghi	7,21 bc	8,44 a
Farinha de mandioca (FM)	5,83 ab	6,10 bcde	7,25 a	8,12 abc	8,50 a	8,50 a
Farinha de milho (FMI)	5,36 b	4,34 j	6,67 abcd	5,54 j	7,87 ab	6,89 b
Farinha de rosca (FR)	2,49 ef	5,65 defghi	3,38 gh	7,56 cdefgh	4,65 ef	8,50 a
Farinha de trigo (FT)	5,06 b	6,20 bcd	5,98 d	7,84 bcdef	7,84 ab	8,50 a
Fubá (FU)	3,96 c	5,48 fghi	4,82 e	7,20 fghi	5,53 d	8,30 a
Polvilho azedo (PA)	2,56 def	1,40 l	3,53 g	1,70 l	4,42 f	2,18 e
Polvilho doce (PD)	6,29 a	5,41 ghi	7,43 a	6,95 hi	8,35 a	8,16 a
Trigo para quibe (TK)	5,28 b	5,80 defg	7,18 ab	7,20 fghi	7,77 ab	8,27 a
Teste F	56,94 **	141,47 **	76,77 **	176,85 **	114,46 **	379,62 **
dms (Tukey 5%)	0,8521	0,5931	0,892	0,6517	0,8217	0,4351

AMBIENTE (A)						
Laboratório	4,87 a	5,61 a	6,05 a	7,15 a	7,01 a	7,79 a
B.O.D.	4,12 b	5,03 b	5,03 b	6,63 b	6,11 b	7,63 b
Teste F	98,63 **	124,45 **	171,36 **	83,20 **	156,38 **	16,27 **
dms (Tukey 5%)	0,1476	0,1028	0,1546	0,1129	0,1424	0,0754
INTERAÇÃO						
Teste F (M X A)	7,31 **	3,18 **	7,36 **	3,25 **	13,92 **	6,97 **
CV (%)	11,74	6,90	9,97	5,86	7,76	3,49
FUNGO (F)						
<i>Arthrotrrys musiformis</i>	4,49 b		5,54 b		6,56 b	
<i>Arthrotrris oligospora</i>	5,32 a		6,89 a		7,71 a	
Teste F	328,60 **		776,03 **		794,62 **	
dms (Tukey 5%)	0,0896		0,0953		0,0802	
AMBIENTE (A)						
Laboratório	5,24 a		6,60 a		7,40 a	
B.O.D.	4,58 b		5,83 b		6,87 b	
Teste F	210,95 **		254,43 **		167,42 **	
dms (Tukey 5%)	0,0896		0,0953		0,0802	
INTERAÇÕES						
Teste F (F X M)	58,42 **		76,78 **		97,88 **	
Teste F (F X A)	3,16 ^{NS}		26,93 **		83,97 **	
Teste F (M X A)	4,54 **		3,85 **		8,82 **	
Teste F (F X M X A)	7,39 **		8,01 **		15,97 **	
CV (%)	9,27		7,79		5,71	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; NS (não significativo).

No terceiro dia de avaliação, a análise de variância da média do crescimento micelial dos fungos nos diferentes meios também diferiu entre os meios a 1% de probabilidade. Para *A. musiformis*, a comparação das médias do crescimento nos diferentes meios evidenciou que PD proporcionou a maior média com 4,63 cm, não diferindo dos meios AFF, AFG, BDA, FA, FM, FMI, FT e TK. A maior média para *A. oligospora* foi de 5,18 cm, com o meio AZG, não diferindo de AAZ, AZT, FT e TK. Para a comparação entre os ambientes, também houve diferença significativa para ambos, sendo que as maiores médias foram obtidas no ambiente do Laboratório, sendo que para *A. musiformis* e *A. oligospora* as médias foram de 3,74 e 4,04 cm, respectivamente. A interação meio x ambiente diferiu a 1% de probabilidade somente para *A. musiformis*. Na comparação entre os fungos, ocorreu diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que a maior média foi de 3,78 cm para *A. oligospora*. Para a comparação entre os ambientes, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que o laboratório apresentou maior média com 3,89 cm. Quanto às interações, apenas para fungo x meio foi significativo a 1% de probabilidade (Tabela 1).

No quarto dia de avaliação, a análise de variância das médias do crescimento dos fungos nos diferentes meios apresentou diferença a 1% de probabilidade para ambos os fungos. O meio PD proporcionou a maior média de crescimento com 6,29 cm para *A. musiformis*, não diferindo, apenas, dos meios AFF, BDA e FM. Para *A. oligospora* o meio AZG foi o que proporcionou a maior média com 7,08 cm, não diferindo apenas de AAZ. Na comparação entre os ambientes, também houve diferença significativa para ambos a 1% de probabilidade, no ambiente de Laboratório, com a média de 4,87 cm para *A. musiformis* e 5,61 cm, para *A. oligospora*. Com a interação meio x ambiente, também houve diferença estatística significativa para ambos os fungos, a 1% de probabilidade. Para a comparação entre os fungos, também houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com a maior média de 5,32 cm para *A. oligospora*. Na comparação entre os ambientes, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com maior média 5,24 cm para o laboratório. Quanto às interações, fungo x meio, meio x ambiente e fungo x meio x ambiente, foram significativas a 1% de probabilidade, para fungo x ambiente foi não significativo (Tabela 1 ... Continuação).

No quinto dia de avaliação, a análise de variância da média do crescimento micelial dos fungos também diferiu entre os meios a 1% de probabilidade.

Para *A. musiformis*, a maior média foi obtida com o meio PD com 7,43 cm, não diferindo de AFF, AM, BDA, CMA, FM, FMI e TK. Com *A. oligospora*, a maior média foi de 8,50 cm para o meio AAZ, não diferindo apenas de AFF, AZG, AZT e FM. Na comparação entre os ambientes, também houve diferença significativa a 1% de probabilidade para ambos os fungos, no ambiente do Laboratório, com uma média de 6,05 cm para *A. musiformis* e 7,15 cm para *A. oligospora*. Para a interação meio x ambiente, também houve diferença estatística significativa para ambos os fungos a 1% de probabilidade. Para a comparação entre os fungos, também houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com a maior média de 6,89 cm para *A. oligospora*. Na comparação entre os ambientes, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com maior média 6,60 cm para o laboratório. Quanto às interações, todas (fungo x meio, fungo x ambiente, meio x ambiente e fungo x meio x ambiente), foram significativas a 1% de probabilidade (Tabela 1 - continuação).

No sexto e último dia de avaliação, a análise de variância da média do crescimento micelial dos fungos também diferiu entre os meios, a 1% de probabilidade. Para *A. musiformis* a maior média foi de 8,35 cm, para o meio FM, não diferindo de AA+D, AFF, AM, BDA, CMA, FMI, FT, PD e TK. Para *A. oligospora*, as maiores médias variaram de 8,16 a 8,50 cm nos meios AA+D, AAZ, AFF, AFG, AM, AZG, AZT, BDA, CMA, FA, FM, FR, FT, FU, PD e TK, não diferindo entre eles, mas diferindo dos demais. Na comparação entre os ambientes, também apresentou diferença significativa a 1% de probabilidade para ambos os fungos no ambiente de Laboratório, sendo que a média para *A. musiformis* foi de 7,01 cm e para *A. oligospora* foi de 7,79 cm. A interação meio x ambiente também apresentou diferença significativa a 1% de probabilidade para ambos os fungos. Para a comparação entre os fungos, também ocorreu diferença significativa a 1% de probabilidade, sendo que a maior média foi para *A. oligospora* com 7,71 cm. Na comparação entre os ambientes, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, com maior média 7,40 cm para o laboratório. Quanto às interações, todas (fungo x meio, fungo x ambiente, meio x ambiente e fungo x meio x ambiente), foram significativas a 1% de probabilidade (Tabela 1 ... Continuação).

A Tabela 2 contém a análise de variância dos dados relativos à esporulação dos isolados de *A. musiformis* e de *A. oligospora* incluídos nos diferentes meios de cultura testados, evidenciando diferença significativa a 1% de probabilidade pelo Teste F.

Tabela 2. Comparações de médias da esporulação por placa de um isolado de *Arthrotrrys musiformis* (Ipameri – GO) e um de *A. oligospora* (Itiquira – MT) em 20 meios de cultura e dois ambientes (B.O.D. 25 1 °C e ambiente do Laboratório) no escuro, após seis dias de crescimento micelial

MEIO (M)	FUNGO (F)	
	<i>Arthrotrrys musiformis</i> ¹	<i>Arthrotrrys oligospora</i>
Ágar água + dextrose (AA+D)	009650 cd	006900 c
Decoto de arroz (AAZ)	000000 f	041650 bc
Aveia em flocos finos (AFF)	031950 abc	046550 bc
Aveia em flocos grssos (AFG)	053750 ab	039000 bc
Ágar micológico (AM)	031900 abc	037635 bc
Amido de milho (AMA)	000000 f	006100 c
Arroz em grãos (AZG)	004200 e	049600 bc
Arroz triturado (AZT)	026700 abc	076850 bc
Batata-dextrose-ágar (BDA)	042650 ab	050700 bc
Batata-dextrose-ágar + Levedura (BDA + L)	002200 d	038450 bc
Corn meal agar (CMA)	004150 d	570800 a
Farinha de aveia (FA)	036350 abcd	042200 bc
Farinha de mandioca (FM)	014550 abc	032550 bc
Farinha de milho (FMI)	027150 ab	052550 bc
Farinha de rosca (FR)	101000 a	108600 b
Farinha de trigo (FT)	009450 bc	038350 bc
Fubá (FU)	008300 e	036300 bc
Polvilho azedo (PA)	000000 f	000000 c
Polvilho doce (PD)	006100 cd	001850 c
Trigo para quibe (TK)	083950 a	014300 bc
Teste F	122,19 **	40,65 **
dms (Tukey 5%)	0,7474	97434
AMBIENTE (A)		
Laboratório	27020 a	52816 b
B.O.D.	22380 b	76278 a
Teste F	38,22 **	7,53 **
dms (Tukey 5%)	0,1295	16882
INTERAÇÃO		
Teste F (M X A)	20,47 **	2,14 **
CV (%)	14,19	93,64
FUNGO (F)		
<i>Arthrotrrys musiformis</i>	24700 b	
<i>Arthrotrrys oligospora</i>	64547 a	
Teste F	431,23 **	
dms (Tukey 5%)	0,0847	
AMBIENTE (A)		
Laboratório	39918 b	
B.O.D.	49329 a	
Teste F	9,76 **	
dms (Tukey 5%)	0,0847	
INTERAÇÕES		
Teste F (F X M)	57,84 **	
Teste F (F X A)	39,58 **	
Teste F (M X A)	12,85 **	
Teste F (F X M X A)	12,13 **	
CV (%)	11,59	

¹ Para a análise estatística, os dados foram transformados em Log (x+1); Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade

A comparação entre as médias pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade para *A. musiformis* revelou que a máxima esporulação desse fungo foi

obtida no meio FR, equivalente a $1,01 \times 10^5$ conídios/placa. Contudo, não houve diferença significativa em relação aos meios AFF, AFG, AM,

AZT, BDA, FA, FM, FMI e TK. Nos meios AAZ, AMA e PA o fungo não esporulou. A maior média para *A. oligospora* foi de $5,71 \times 10^5$ conídios/placa, obtidos no meio CMA, diferindo de todos os demais meios. Também, não houve esporulação desse isolado de *A. oligospora* no meio PA. Na comparação entre os ambientes, também houve diferença significativa a 1% de probabilidade para ambos os fungos. Para *A. musiformis*, ocorreu maior esporulação média no ambiente do Laboratório, com $2,7020 \times 10^4$ conídios/placa, enquanto a maior esporulação de *A. oligospora* foi obtida em B.O.D. a 25 ± 1 °C com $7,6278 \times 10^4$ conídios/placa. A interação meio x ambiente, também foi significativa pelo Teste F a 1% de probabilidade, para ambos os fungos. Para a comparação entre os fungos, houve diferença significativa a 1% de probabilidade, sendo a maior média de $6,4547 \times 10^4$ conídios/placa obtida com *A. oligospora* e para *A. musiformis* foi de apenas $2,4700 \times 10^4$ conídios/placa. Na comparação entre os ambientes, houve diferença estatística significativa a 1% de probabilidade, sendo que a maior média foi obtida na B.O.D. com $4,9329 \times 10^4$ conídios/placa e no ambiente foi de apenas $3,9918 \times 10^4$ conídios/placa. Quanto às interações, todas (fungo x meio, fungo x ambiente, meio x ambiente e fungo x meio x ambiente), foram significativas a 1% de probabilidade (Tabela 2).

No presente estudo, 50% dos meios testados foram adequados para o crescimento micelial de *A. musiformis*, uma vez que proporcionaram crescimento micelial entre 7,0 e 8,5 cm, não diferindo estatisticamente entre si (FM, PD, CMA, AFF, AA+D, AM, BDA, FMI, FT e TK). Para *A. oligospora*, 75% dos meios testados propiciaram o crescimento do fungo variando entre 8,0 e 8,5 cm (crescimento máximo), no período da avaliação, a saber: AAZ, AFF, AM, AZG, AZT, FM, FR, FT, AA+D, FA, AFG, CMA, FU, BDA, TK e PD. Em relação à esporulação, os meios que se destacaram para *A. musiformis*, em ordem decrescente, foram: FR, TK, AFG, BDA, FA, AFF, AM, FMI, AZT e FM, variando entre $1,01 \times 10^6$ e $1,4 \times 10^4$ conídios/placa. Para a esporulação de *A. oligospora*, o meio CMA foi o mais adequado, tendo sido obtidos $5,7 \times 10^6$ conídios/placa. Em estudo similar, Dias e Ferraz (1993) observaram que, para diferentes espécies de *Arthrobotrys*, entre as quais figurava um isolado de *A. musiformis*, os meios BDA, CMA e o meio de fubá propiciaram a máxima esporulação dos isolados testados. Nos estudos realizados por Bernardo (2002), envolvendo quatro espécies de fungos nematófagos, inclusive um isolado de *A. musiformis* e um de *A. oligospora*, o crescimento micelial de ambos foi semelhante nos meios BDA e CMA. Quanto à esporulação, *A. oligospora* esporulou nos dois meios, como observado no presente estudo. Entretanto, *A. musiformis* só esporulou em BDA,

diferindo dos resultados obtidos no presente estudo, cuja esporulação do isolado de *A. musiformis* foi estatisticamente maior em BDA que em CMA. No geral, os melhores meios para o crescimento micelial e esporulação de *A. musiformis*, no estudo em questão, também foram os melhores para *A. oligospora*, mas alguns que se destacaram para *A. oligospora* não foram eficazes para o crescimento micelial ou a esporulação de *A. musiformis*, indicando que o isolado de *A. musiformis* estudado é mais exigente que o de *A. oligospora*.

Os dados obtidos no presente estudo confirmaram que os meios adequados para o crescimento micelial dos fungos não favoreceram a esporulação e vice-versa, conforme também fora observado por Dias e Ferraz (1993). Por conseguinte, a escolha do meio para obtenção de culturas puras dos fungos que seriam utilizadas no processo de formulação deve levar em conta o tipo da formulação pretendida, uma vez que os fungos podem ser formulados tanto à base de conídios quanto de micélio (SALGADO; CAMPOS, 1993; ROBINSON; JAFFEE, 1996; CARNEIRO; GOMES, 1993; CARNEIRO; KULCZYNSKI, 1993; MACHADO; CAMPOS, 1997).

Quanto aos dois ambientes testados no estudo, o que proporcionou a maior média no crescimento micelial, em todas as avaliações foi o ambiente do Laboratório. Quanto à esporulação, o ambiente do Laboratório foi mais adequado para *A. musiformis*, enquanto *A. oligospora* esporulou mais em B.O.D. (25 ± 1 °C). Os dados evidenciaram que os isolados dos fungos incluídos no estudo têm exigências ecológicas distintas, conforme já havia sido observado por outros autores (DIAS; FERRAZ, 1993), indicando que as exigências ecológicas desses fungos devem ser determinadas em cada caso, tanto para espécies quanto para os isolados de uma mesma espécie (OLTHOF; ESTEY, 1965). Além disso, informações sobre o efeito de fatores ecológicos no crescimento e na atividade desses fungos podem ser usadas vantajosamente, para melhorar sua eficiência no controle de nematóides (DUDDINGTON, 1955). O sucesso no estabelecimento de fungos nematófagos no solo, depende de uma base nutricional que lhes garanta vantagens competitivas sobre a biota do solo, conforme menção de Kerry et al. (1984).

CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente estudo indicaram que para a produção em grandes quantidades de inóculo desses fungos existem várias opções de meios de cultura que podem ser preparados com materiais facilmente encontrados e de custo

menor que os meios industrializados, tais como BDA e CMA.

Cinquenta por cento dos meios testados propiciaram o crescimento micelial máximo de *A. musiformis*, a saber: meio de farinha de mandioca (FM), polvilho doce (PD), “corn meal ágar” (CMA), aveia em flocos finos (AFF), ágar-água + dextrose (AA+D), ágar micológico (AM), batata dextrose ágar (BDA), farinha de milho (FMI), farinha de trigo (FT) e trigo para quibe (TK).

Para *A. oligospora*, 75% dos meios testados propiciaram o crescimento máximo do fungo, no período, quais sejam: AFF, AM, FM, PD, CMA, AA, BDA, FT, TK, AAZ, AZG, AZT, FR, FA, AFG e FU. Em relação à esporulação, os meios que se destacaram para *A. musiformis*, em ordem decrescente, foram: FR, TK, AFG, BDA, FA, AFF, AM, FMI, AZT e FM, variando entre $1,01 \times 10^6$ e $1,4 \times 10^4$ conídios/placa. Para a esporulação de *A. oligospora*, o meio CMA propiciou a máxima esporulação com média estimada de $5,7 \times 10^6$ conídios/placa.

Em geral, os melhores meios para o crescimento micelial e esporulação de *A. musiformis* também o foram para *A. oligospora*, mas alguns que se destacaram para *A. oligospora* não foram eficazes para o crescimento micelial ou a esporulação de *A. musiformis*, indicando que o isolado de *A. musiformis* estudado é mais exigente que o de *A. oligospora*. Além disso, os dados indicaram que, nas condições climáticas de Jaboticabal, não se faz necessária a utilização de câmaras especiais para o crescimento desses fungos. Adaptações simples de uma sala no laboratório visando o bloqueio da luz podem ser satisfatórias.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelas concessões da bolsa de Doutorado (Processo: 03/05677-7) do primeiro autor e auxílio à pesquisa (Processo: 03/12573-3) para realização do presente trabalho.

ABSTRACT: The researches on the biological control of nematodes with nematophagous fungi has been intensified in recent years. The knowledge of the ecological conditions for the growth and sporulation of these fungi is a prerequisite for attainment of pure cultures needed to attend the demand for formulation of these organisms. With the objective to evaluate the micelial growth and sporulation of *Arthrobotrys musiformis* and *A. oligospora* in two environments (B.O.D at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and the environment of the Laboratory), 20 cultures media prepared with common materials found in the communities and industrialized media such as mycological agar, PDA and CMA were evaluated. The media were tested in Petri dishes, being the micelial growth of the fungi evaluated daily, during six days. The measured sporulation at the end of the experiment was done by estimation of the number of conidia/Petri dish. The experiment was carried out in a random design following a factorial arrangement of $20 \times 2 \times 2$, corresponding to 20 media, two fungi and two environments, with five replicates. The variance analysis of the data evidenced significant statistical difference by the F Test, at 1% probability, among media x fungi x environment interaction. Fifty percent of the tested media provided the adequate micelial growth of *A. musiformis* and there was no statistical difference among them, namely: cassava meal (FM), sweet starch (PD), “corn meal agar” (CMA), oat in fine flakes (AFF), agar-water + dextrose (AA+D), mycological agar (AM), potato dextrose agar (BDA), meal of maize (FMI), flour of wheat (FT) and wheat for kibble (TK). In relation to *A. oligospora*, 75% of the tested media promoted the maximum growth of the fungus, which are: AFF, AM, FM, PD, CMA, AA+D, BDA, FT, TK, the water from the decoction of rice (AAZ), rice in grains (AZG), trituated rice (AZT), thread flour (FR), oats flour (FA), oats in thick flakes (AFG) and flour of maize (FU). In relation to the sporulation the media that had better role for *A. musiformis*, in decreasing order, were: FR, TK, AFG, BDA, FA, AFF, AM, FMI, AZT and FM, varying between $1,01 \times 10^6$ and $1,4 \times 10^4$ conidia/Petri dish. For the *A. oligospora* sporulation, the CMA medium provided the maximum level with an estimated average of $5,7 \times 10^6$ conidia/Petri dish. In the general, the best media for the micelial growth and sporulation of *A. musiformis* had also been the best for *A. oligospora*. However, some that had been the best for the *A. oligospora* did not had been efficient for the micelial growth or the sporulation of *A. musiformis*, indicating that the isolate of *A. musiformis* in case is more demanding than that *A. oligospora* one. The evidences from the study indicate that, in Jaboticabal, São Paulo state, the growth and the sporulation of these fungi do not demand special chambers. Some adaptations of an environment at the laboratory, enough to obliterate the light are sufficient.

KEYWORDS: Nematophagous. Fungi. Biological control. Trap fungi. Biological control. Biological control agents. In vitro cultivation.

REFERÊNCIAS

- BERNARDO, E. R. DE A. **Eficácia do controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* (Linford e Oliveira, 1940) em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) com fungos nematófagos.** 2002. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Metodologia e testes de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 17, p. 66-75, 1993.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; KULCZYNSKI, S. M. Metodologia de produção de conídios para diferentes isolados de *Paecilomyces* spp. em arroz. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 17, p. 98-101, 1993.
- CASTRO, J. M. C.; LIMA, R. D. DE; FERRAZ, S.; NEVES, J. C. L. Capacidade de predação de *Arthrobotrys musiformis* a fitonematóides. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 26, p. 58-62, 2000.
- CAYROL, J. C.; FRANKOWSKI, J. P.; LANIECE, A.; D'HARDEMARE, G.; TALON, J. P. Contre les nématodes en champignonnière. Mise au point d'une méthode de lutte biologique a l'aide d'un hyphomycete prédateur: *Arthrobotrys robustus* souche antipolis (Royal 300). **Révue Horticulture**, Paris, v. 184, p. 23-30, 1978.
- COOKE, R. C. Ecological characteristics of nematode-trapping Hyphomycetes. I. Preliminary studies. **Annals of Applied Biology**, London, v. 52, p. 431-437, 1963.
- DIAS, W. P.; FERRAZ, S. Crescimento e esporulação de *Arthrobotrys* spp. Em diferentes substratos, meios de cultura, pH e níveis de temperatura. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 17, p. 168-181, 1993.
- DIAS, W. P.; FERRAZ, S. Avaliação de espécies de *Arthrobotrys* para o controle de *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 189-192, 1994.
- DUDDINGTON, C. L. Fungi that attack microscopic animals. **Botanical Review**, New York, v. 21, p. 377-439, 1955.
- GRAY, N. F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: Poinar Junior, G. O.; Jansson, H. G. **Disease of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, 1988, v. 2, p. 3-38.
- JANSSON, H. B. Predacity by nematophagous fungi and its relation to the attractions of nematodes. **Microbial Ecology**, New York, v. 8, p. 233-240, 1982.
- KERRY, B. R.; SIMON, A.; ROVIRA, A. D. Observations on the introduction of *Verticillium chlamydosporium* and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae*. **Annual Applied Biology**, Camberra, v. 105, p. 509-516, 1984.
- MACHADO, V. O. F.; CAMPOS, V. P. Cultivo de fungos antagonistas em diferentes substratos e avaliação da eficiência no controle de *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 387-391, 1997.
- MORGAN-JONES, G.; RODRÍGUEZ-KABANA, R. Fungal biocontrol for the management of nematodes. In: Veech, J.A.; Dickson, D.W. (eds.). **Vistas on Nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists Inc., 1987. p. 94-99.
- OLTHOF, H. A.; ESTEY, R. H. Relation of some environmental factors to growth of several nematophagous hyphomycetes. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 11, p. 939-946, 1965.
- ROBINSON, A. F.; JAFFEE, B. Repulsion of *Meloidogyne incognita* by alginate pellets containing hyphae of *Monacrosporium cionopagum*, *M. ellipsosporum* or *Hirsutella rhossiliensis*. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 28, p. 133-147, 1996.

- RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Controle biológico de nematodos parasitos de planta. **Nematropica**, DeLeon Springs, v. 21, p. 11-32, 1991.
- SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, V. P. Formulação do fungo *Arthrobotrys conoides* em alginato de sódio para o controle de nematóides. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 17, p. 140-151, 1993.
- SLEPETIENE, J.; MACKEVIC, N.; TEPLIAKOVA, T. A comparative characteristic of the effect of predatory fungi and nematicides on soil nematodes. **Acta Parasitologica Lituanica**, Vilnius, v. 24, p. 45-57, 1993.
- TEDFORD, E. C.; JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E. Effect of temperature on infection of the cyst nematode *Heterodera schachtii* by the nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v. 66, p. 6-10, 1995.
- VAN GUNDY, S. D. Biological control of nematodes: status and prospects in agricultural IPM Systems. In: Hoy, M.A.; Herzog, D.C. (eds.) **Biological control in agricultural IPM systems**. New York: Academic Press, 1985. p. 467-478.
- VELVIS, H.; KAMP, P. Supression of potato cyst nematode root penetration by the endoparasitic nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 102, p. 115-122, 1996.
- VOUYOUKALOU, E. Effect of *Arthrobotrys irregularis* on *Meloidogyne arenaria* on tomato plants. **Fundamental Applied Nematology**, Paris, v. 16, p. 321-324, 1993.