**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* em meloeiro cv. Asturia

Tiarla Graciane Souto

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2020**

Tiarla Graciane Souto
Engenheira Agrônoma

Controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* em meloeiro cv. Asturia
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **MÁRIO MASSAYUKI INOMOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Souto, Tiarla Graciane

Controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* em meloeiro cv. Asturia / Tiarla Graciane Souto. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

43 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Nematóide reniforme 2. *Trichoderma harzianum* (L.) 3. *Purpureocillium lilacinum* 4. *Pochonia chlamydosporia* 5. *Cucumis melo* L. I.
Título

Dedico à minha família, aos amigos e colegas pelo apoio e carinho ao longo desse trabalho, em especial a minha mãe Maria Aparecida pela força e exemplo de uma mulher guerreira.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela força e oportunidades que me fazem crescer a cada dia.

À minha mãe Maria, ao meu irmão Mário e a minha avó Cecília, por estarem sempre presentes e serem o meu apoio.

À minha irmã Erika, por toda ajuda, conselho, amizade e companheirismo demonstrados ao longo de todos esses anos.

Ao meu orientador Prof^o. Mário Massayuki Inomoto, por todos os ensinamentos e apoio.

À minha amiga Lillian Bibiano, pelas conversas, conselhos e ajuda durante o atual projeto.

Aos meus amigos Pedro Confort, Victor Moura e Ísis Tikami, pelo apoio e troca de experiências.

Aos colegas do laboratório de Nematologia da ESALQ/USP Joaquim Dias, Mariana Maillut, Amanda Borjatto, João Zinsly e Thainá dos Santos pelo apoio durante todo projeto.

À Sakata Seed[®] Sudamerica, pela concessão das sementes.

À Ballagro[®] Agro Tecnologia Ltda e Stoller[®] do Brasil Ltda, pela doação dos produtos biológicos usados no presente trabalho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, por todas as oportunidades durante a graduação e agora na pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

*“Segue o teu destino,
Rega as tuas plantas,
Ama as tuas rosas.
O resto é sombra
De árvores alheias”.*

Fernando Pessoa

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
1.1 Revisão bibliográfica.....	9
1.1.1 O melão.....	9
1.1.2 Características socioeconômicas da melonicultura no Brasil.....	10
1.1.2.1 Cultivar Asturia.....	11
1.1.3 Fitonematoides do meloeiro.....	12
1.1.3.1 <i>Rotylenchulus reniformis</i>	12
1.1.4 Controle de <i>Rotylenchulus reniformis</i>	13
1.1.4.1 Controle biológico de <i>Rotylenchulus reniformis</i>	14
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
2.1 Tratamentos.....	18
2.2 Obtenção dos inóculos.....	19
2.3 Ensaio de penetração de fêmeas imaturas de <i>Rotylenchulus reniformis</i> em raízes de meloeiro cv. Asturia.....	19
2.3.1 Preparo das parcelas.....	19
2.3.2 Inoculação de <i>Rotylenchulus reniformis</i>	19
2.3.3 Avaliação.....	20
2.4 Ensaio da reprodução de <i>Rotylenchulus reniformis</i> e do desenvolvimento das plantas.....	20
2.4.1 Preparo das parcelas.....	21
2.4.2 Inoculação de <i>Rotylenchulus reniformis</i>	21
2.4.3 Avaliação.....	21
2.5 Análises estatísticas.....	21
3. RESULTADOS.....	24
3.1 Ensaio de penetração de fêmeas imaturas de <i>Rotylenchulus reniformis</i> em raízes de meloeiro cv. Asturia.....	24
3.2 Ensaio da reprodução de <i>Rotylenchulus reniformis</i> e do desenvolvimento das plantas.....	25
4. DISCUSSÃO.....	30
5. CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS.....	36

RESUMO

Controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* em meloeiro cv. Asturia

O melão é uma das olerícolas mais populares do mundo. No entanto, patógenos como o nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) vêm crescendo em densidade e importância nos principais polos produtores do fruto no Brasil. Em decorrência da falta de métodos de controle para o patossistema *R. reniformis*- melão, objetivou-se avaliar a interferência de três fungos antagonistas: *Trichoderma harzianum*, *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinum*, em duas diferentes doses, a recomendada em bula e cinco vezes esse valor, sendo para *T. harzianum* (0,2 e 1 g /planta), para *P. chlamydosporia* (0,2 e 1 g /planta) e para *P. lilacinum* (0,06 e 0,3 g /planta). O presente trabalho foi dividido em dois ensaios, sendo que o primeiro analisou a taxa de penetração radicular das formas infectivas e o segundo, o desenvolvimento da planta e reprodução do nematoide por meio das variáveis massa seca da parte aérea, massa fresca das raízes, número de nematoides por grama de raiz e variação populacional, sob condições de casa-de-vegetação. Para o ensaio de penetração, foram inoculadas aproximadamente 200 fêmeas imaturas por parcela, já para o de reprodução do nematoide e desenvolvimento da planta, inocularam-se 2000 formas móveis. O fungo *T. harzianum* impactou positivamente no desenvolvimento da planta, tanto da parte aérea, quanto do sistema radicular, tornando-se, de forma geral, o melhor agente nestas variáveis; entretanto, exibiu baixo controle do nematoide. *P. lilacinum*, de forma geral, mostrou comportamento diferenciado entre as doses aplicadas, sendo que a maior dose foi mais efetiva no desenvolvimento da planta e no controle do nematoide, quando comparada à menor dose, mas se comparado aos outros fungos, teve baixo impacto em todas as variáveis avaliadas. Por fim, *P. chlamydosporia* apresentou resultados discrepantes entre as doses no que concerne ao desenvolvimento da planta, porém o fungo na maior dose exibiu algum controle do patógeno, sendo o melhor tratamento nesta variável. Assim, a dose resposta para cada interação deve ser melhor estudada antes da indicação para o patossistema avaliado neste trabalho.

Palavras-chave: Nematoide reniforme, *Trichoderma harzianum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Cucumis melo* L.

ABSTRACT

Biological control of *Rotylenchulus reniformis* in melon (*Cucumis melo* L.) cv. Asturia

Melon is one of the most popular fruits around the world. However, pathogens such as the reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis*) have become a major problem in commercial melon growing areas in Brazil. Considering the lack of efficient strategies to control *R. reniformis* in melon crops, the goal of this work was to study the efficacy of three biocontrol agents: *Trichoderma harzianum*, *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* in controlling the nematode at two different doses. The first dose was used as commercially recommended and the second one was five times higher, for instance, *T. harzianum* (0.2 and 1g per plot); *P. chlamydosporia* (0.2 and 1g per plot) and *Purpureocillium lilacinum* (0.06 and 0.3g per plot). The experiment was divided into two assays. The first experiment evaluated the rate of nematode penetration and, the second, the plant development and nematode reproduction through the parameters shoot dry weight, fresh root weight, number of nematodes per gram of root and population variation, under greenhouse conditions. Approximately 200 immature females were inoculated per plot for the penetration test and about 2000 mobile nematodes were inoculated for the nematode reproduction and plant development assays. The fungus *T. harzianum* showed a positive effect on plant growth, increasing dry weights and root system. In general, *T. harzianum* was the best biological agent among those evaluated parameters, but exhibited minimal effect in nematode control. *Purpureocillium lilacinum* showed variable behavior between the applied doses, in which the highest dose was more effective compared to the lowest one in plant development and nematode control. However, comparing *P. lilacinum* to the other agents used in this work, we can conclude its low interference in the parameters analyzed. Finally, *P. chlamydosporia* showed contradictory results between its doses, mainly in the plant development even so the highest dose revealed significant biocontrol activity against the reniform nematode. Thus, the dose response for each interaction (fungus- reniform nematode- melon) should be better studied in order to recommend the appropriate management strategy of this nematode in the field.

Keywords: Reniform nematode, *Trichoderma harzianum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Cucumis melo* L.

1. INTRODUÇÃO

O melão é uma das olerícolas mais consumidas no mundo. No ano de 2018, a cultura ocupou 1,05 milhão de ha, com uma produção de 27,35 milhões de t (FAO, 2018). No Brasil, a área plantada com melão ultrapassou os 23.500 hectares no ano de 2019, e a quantidade colhida no mesmo período excedeu 581.000 t (IBGE, 2019; FAO, 2018). Apesar dos bons números, a produção de melão tem enfrentado extensos desafios, entre eles os fitonematoides encontrados associados à cultura, tais como *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *Pratylenchus* spp. e *Rotylenchulus reniformis* (TORRES et al., 2006a).

O nematoide reniforme (*R. reniformis*) foi durante muito tempo tido como um patógeno secundário em diversas lavouras, inclusive na melonicultura, porém nos últimos anos passou a ser considerado um grave problema nas áreas produtoras, em decorrência, principalmente, de sua alta densidade populacional e ampla distribuição nos principais polos produtores (TORRES et al., 2005; NUNES et al., 2011; FREIRE, 2016). A escassez de métodos de controle operacionalmente simples é outra razão para o aumento das perdas causadas pelo nematoide reniforme (BARRETO et al., 2008, AGROFIT, 2019). Diante dessa realidade, soluções aceitáveis para os melonicultores e com baixo impacto ambiental precisam ser desenvolvidas. Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar a eficácia de três produtos biológicos disponíveis comercialmente para o controle de *R. reniformis* em meloeiro.

1.1 Revisão bibliográfica

1.1.1 O melão

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma das olerícolas mais populares do mundo, ocupando em 2018, uma área correspondente a 1,05 milhão de hectares (ha), com uma produção de 27,35 milhões de toneladas (t). A China é o maior produtor mundial, sendo responsável por cerca de 50% da produção no ano 2018, de igual forma, grandes produtores como Turquia, Irã, Índia e Estados Unidos devem ser ressaltados (FAO, 2018; SALVIANO et al., 2017).

É uma planta polimórfica pertencente à família Cucurbitaceae, cujo centro de origem é a África. No entanto, foi a partir da Índia que se irradiou para as várias regiões do mundo (COSTA, 2000). A espécie é considerada uma hortaliça do tipo fruto por apresentar característica herbácea do tipo rasteiro, ciclo curto e tratos culturais intensivos (BARRETO, 2018). Em adição, possui uma alta variabilidade genética, sendo que ao longo dos anos diversas classificações foram propostas, entre elas a divisão em grupos botânicos: Cantaloupensis, Inodorus, Conomon, Dudaim, Flexuosus, Reticulatus e Momordica (VALADARES, 2017).

Apesar do grande número de variedades, os genótipos produzidos comercialmente pertencem às variedades botânicas *Inodorus*, *Cantaloupensis* e *Reticulatus*, em que a primeira abrange frutos sem aroma e com boa resistência ao transporte e grande vida pós-colheita, e as demais possuem frutos aromáticos, com elevado teor de sólidos solúveis e baixo tempo de conservação (SILVA, 2016).

A maior parte dos frutos produzidos é destinada para o consumo *in natura* (MEDEIROS et al., 2015). Já a prática do processamento do fruto para a obtenção de novos produtos, tais como doces, geleias, sucos, néctares e bebidas alcoólicas está em uma fase embrionária (BESSA et al., 2018). Mesmo assim, faz-se necessário que a qualidade dos frutos seja elevada, pois as exigências de aceitabilidade por parte do consumidor em características como espessura da polpa, aparência interna e externa, e “flavor” sejam ser atendidas (VARGAS et al., 2008). A concentração de açúcar é o fator mais significativo e determinante na qualidade dos frutos, sendo os açúcares solúveis sacarose, frutose e glucose são os mais importantes (BURGER et al., 2002).

O melão é rico em vários minerais, especialmente potássio, sódio e fósforo, porém com um baixo valor energético, de 20 kcal a 62 kcal/100g de polpa, que permite seu consumo em dietas com baixa caloria. Ademais, o fruto quando maduro possui propriedades medicinais, sendo considerado calmante, alcalinizante, mineralizante, oxidante, diurético, laxante, emoliente, além de outros atributos para o tratamento de doenças (COSTA, 2008).

1.1.2 Características socioeconômicas da melonicultura no Brasil

No Brasil, a produtividade em 2018 esteve próxima a 25 toneladas/ha, sendo que a área plantada ou destinada à colheita de melão ultrapassou os 23.500 hectares e a quantidade produzida e colhida no mesmo período excederam 581.000 toneladas (IBGE, 2019; FAO, 2018).

O cultivo no Brasil para comercialização iniciou-se na década de 1960, estabelecendo-se em um primeiro momento no estado de São Paulo e, em seguida, no Rio Grande do Sul (NUNES et al., 2018). Todavia, a consolidação da cultura ocorreu na região Nordeste, a qual responde na atualidade por 90% da produção nacional, sendo os estados do Rio Grande do Norte (RN) e Ceará (CE) responsáveis por 83% do percentual regional (DE FIGUEIREDO et al., 2017; IBGE, 2019). Os maiores polos produtores encontram-se nas localidades de Mossoró/Assú (RN) e Baixo Jaguaribe (CE) (SECCO et al., 2010).

A importante e notável adaptação do meloeiro às condições edafoclimáticas da região Nordeste trouxe inúmeros benefícios que vão além das características agrônômicas (DANTAS

et al., 2012). Em especial no semiárido, onde a geração de emprego e o aumento da renda impactaram positivamente nessa região considerada uma das mais pobres do país (BESSA et al., 2018). Entretanto, a atividade comercial que envolve a produção de melão no Nordeste evidencia uma dicotomia entre os produtores, em que empresas de médio e grande porte altamente tecnificadas são responsáveis por cerca de 90% da produção, contra um número elevado de pequenos produtores, autônomos ou organizados em associações e cooperativas que, usufruindo de baixa tecnologia, resultam no declínio de produtividade e na qualidade dos frutos (PAIVA et al., 2000). Apesar disso, houve uma evolução da área cultivada no Brasil, entre os períodos de 1970 e 2013, em que a melonicultura passou dos 4.777 ha para 22.021 ha, apresentando um aumento de 361%. Igualmente, a produção passou de 5.221 t para 565.900 t, ou seja, um acréscimo de 10.739%, como resultado do trabalho de instituições de pesquisa empenhadas em produzir novas tecnologias (SALVIANO et al., 2017). Um dos métodos que vêm auxiliando os produtores que visam um cultivo mais tecnificado é o transplântio de mudas, o qual possui diversas vantagens comparadas à semeadura direta, tais como a uniformidade de germinação, melhor controle sanitário e nutricional, maior economia de água e sementes, maior sobrevivência no campo e menor necessidade de replântio (COSTA e DIAS, 2010).

Atualmente, o melão vem sendo a fruta brasileira mais exportada, em quantidade, entre as frutas frescas e processadas. No ano de 2019, vendeu-se para o exterior um total 251 mil toneladas, com uma arrecadação de 160 milhões de dólares (ABRAFRUTAS, 2019). O melão Amarelo é o mais plantado no país, mas os Pele de Sapo, Gália, Charentais, Cantaloupe e Honeydew também são cultivados visando ao mercado internacional, em especial o mercado europeu (SALVIANO et al., 2017).

1.1.2.1 Cultivar Asturia

A cultivar Asturia foi escolhida para os ensaios deste trabalho e pertence ao grupo Inodorus e ao tipo Pele de Sapo (NUNES et al., 2004).

O tipo Pele de Sapo é de origem espanhola e apresenta frutos grandes (maiores que 3 kg) de cor esverdeada com manchas verde-escuras, possuindo uma polpa de coloração que vai do branco ao verde (OLIVEIRA et al., 2017). A área correspondente a este tipo de melão está em torno de 18% das lavouras cultivadas com o fruto no país, em que a maior parte da produção é voltada ao mercado externo, principalmente Portugal e Espanha (IBRAF, 2015). O híbrido Asturia é uma das cultivares tipo Pele de Sapo mais plantadas no Brasil, pois possui características agrônômicas desejáveis, como alta produtividade e rusticidade (SAKATA, 2009;

MACEDO, 2015). Seus frutos são de conformação alongada e cavidade interna pequena. A casca é enrugada e de coloração esverdeada, a polpa é creme e com elevado Brix. Em adição, possui resistência a oídio (*Podosphaera xanthii*) (raças 1 e 2) e a *Fusarium oxysporum* f.sp *melonis* (raças 0, 1 e 2) (SALVIANO et al., 2017).

1.1.3 Fitonematoides do meloeiro

Apesar dos crescentes aumentos de produção ao longo dos anos, a melonicultura tem enfrentado extensos desafios, entre eles as doenças radiculares causadas por nematoides fitoparasitas. Os primeiros relatos a respeito de fitonematoides atacando a cultura do melão datam da década de 1950, quando as espécies *Aphelenchus avenae*, *Helicotylenchus dihystera* e *Meloidogyne incognita* foram identificadas na variedade Cantaloupe, no Estado de São Paulo (VIANA et al., 2001). Atualmente, várias espécies importantes têm sido detectadas na melonicultura, com destaque para *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *Pratylenchus* spp. e *Rotylenchulus reniformis* (TORRES et al., 2006a).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* (*M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*) são os mais frequentes nas regiões produtoras, sendo também os mais relevantes para a cultura do melão, pois atacam o sistema radicular, impactando negativamente na absorção e translocação de nutrientes, reduzindo, assim, a produtividade (DINIZ, 2016). Na parte aérea, as plantas atacadas geralmente exibem clorose, redução no tamanho e quantidade de folhas, ocorrendo murchas nas horas mais quentes do dia. Em adição, quando interagem com outros patógenos do solo como os fungos, a exemplo de *Didymella bryoniae* (agente causal do cancro da haste), causam prejuízos maiores do que ocorreriam caso atuassem de forma isolada (PINHEIRO e AMARO, 2010; ITO et al., 2014). Outra espécie que merece destaque é *M. enterolobii*, por ser comum no Nordeste brasileiro, apresentar polifagia e alta agressividade dos isolados quando testados em meloeiro (BITTENCOURT e SILVA, 2010; FREITAS et al., 2017).

Já para o nematoide das lesões radiculares, *P. brachyurus*, um estudo realizado em condições laboratoriais por Machado e Inomoto (1999) demonstrou a suscetibilidade do meloeiro ao fitoparasita. Contudo, seu relato em condições naturais de campo só ocorreria cinco anos mais tarde por Torres et al. (2004).

Em relação a *R. reniformis* nos últimos anos sua importância vem crescendo nas áreas produtoras (NUNES et al., 2011; FREIRE, 2016).

1.1.3.1 *Rotylenchulus reniformis*

O gênero *Rotylenchulus* Linford and Oliveira 1940 é composto por 11 espécies válidas e *R. reniformis* (nematoide reniforme) é a mais importante economicamente (PALOMARES-RIUS et al., 2018). O nematoide reniforme está amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais e possui uma ampla gama de hospedeiros, que abrange mais de 400 espécies de plantas em mais de 115 gêneros de 46 famílias botânicas (DAVIS et al., 2003; SOARES et al., 2003). Com hábito semi-endoparásita, somente as fêmeas imaturas invadem as raízes e induzem a formação de um sítio de alimentação conhecido como sincício, o qual é originado a partir da endoderme ou periciclo (PALOMARES-RIUS et al., 2017). Assim, com a evolução do parasitismo e posterior maturação dos órgãos reprodutivos, a fêmea cresce e adquire um formato de rim, o qual origina seu nome comum: reniforme (WANG, 2001).

Seu ciclo de vida é dependente da duração do ciclo do hospedeiro e da temperatura do solo. As fêmeas maduras produzem de 50 a 120 ovos, aproximadamente, em uma matriz gelatinosa que envolve todo o corpo do nematoide, exposto no solo. O juvenil de segundo estágio (J2) eclode do ovo, passando por mais três ecdises sem se alimentar, até se tornar adulto (DE CASTRO TORRES, 2007; LIRA et al., 2018).

O primeiro relato de *R. reniformis* associado à cultura do meloeiro no Brasil é relativamente recente, sendo registrado por Moura et al. (2002), causando prejuízos em áreas produtoras nos municípios de Mossoró e Assú (RN). Nesse primeiro informe, os autores chamaram a atenção para a elevada densidade populacional encontrada no solo, sendo contabilizados mais de 15.000 espécimes por 100 cm³ de solo. Desde então, trabalhos passaram a constatar a presença do nematoide em grande parte das áreas melonicultoras, tornando-o a principal espécie nas lavouras do Rio Grande do Norte, em mais de 55% dos campos de melão analisados (TORRES et al., 2005). No ano de 2006, outro levantamento realizado nos principais polos produtores do Nordeste apontou que o gênero *Rotylenchulus* ocorria em 53% das áreas, superando o gênero *Meloidogyne* (BARRETO et al., 2008).

1.1.4 Controle de *Rotylenchulus reniformis*

Na cultura do algodão, apesar das perdas relevantes no Brasil, o manejo de *R. reniformis* não tem sido aplicado adequadamente (ASMUS e ISHIMI, 2009). No entanto, a cotonicultura no país é a única que possui moléculas químicas registradas para o controle do nematoide, terbufós e abamectina, ambas classificadas como tóxicas e pouco seletivas (AGROFIT, 2019), descartando, assim, a possibilidade do manejo químico na cultura do melão atualmente.

O controle genético é outra possibilidade de manejo do nematoide reniforme, porém são escassos os estudos relacionados à reação de genótipos de meloeiro (TORRES, 2007).

Torres et al. (2006b), em trabalho realizado com seis cultivares de melão, concluíram que todas se comportaram como boas hospedeiras do nematoide. De igual forma, Nunes et al. (2011) testaram linhagens de meloeiro amarelo ao parasitismo de *R. reniformis*, verificando que todas eram suscetíveis. Desse modo, até o momento não são conhecidos cultivares/híbridos que sejam resistentes ao patógeno (BARRETO et al., 2008).

O manejo cultural de *R. reniformis* também encontra dificuldades para ser bem sucedido, pois este patógeno pode sobreviver por cerca de sete meses em solo úmido e por seis meses em solo seco na ausência da planta hospedeira, sem contar nos relatos de sua sobrevivência após 29 meses sem o hospedeiro (NETSCHER e SIKORA, 1990). Assim, o pousio, uma prática comum realizado pelo produtor, pode não ser suficiente para redução populacional do nematoide, o qual pode atingir rapidamente o nível de dano econômico na primeira safra (TORRES et al., 2006a). Por outro lado, o uso de rotação de culturas, principalmente poáceas, tem se mostrado efetivo no seu controle. Os adubos verdes aveia branca 'IPR126', aveia preta 'IAPAR61', tritcale 'IPR111', centeio 'IPR89', tremoço branco, sorgo 'SI03204', milheto 'BRS1501', *B. ruziziensis*, capim pé-de-galinha gigante, estilosante 'Campo Grande', amendoim 'IAC Tatu ST' e mucuna anã mostraram-se eficientes no controle populacional do nematoide (GARDIANO et al., 2014). Igualmente, o uso de milho e *Crotalaria ochroleuca* também foram capazes de reduzir o patógeno na cultura da soja (LEANDRO e ASMUS, 2015). Apesar de diversos trabalhos demonstrarem a efetividade da rotação de culturas no manejo do nematoide reniforme, essa prática possui algumas desvantagens, como o planejamento dificultado para outras culturas, maquinário específico, comercialização dos produtos e dificuldade de crédito para culturas com menor expressão econômica (MELLO, 2015).

Diante dessa realidade o controle biológico é uma alternativa que foi pouco explorada no binômio meloeiro- *R. reniformis*.

1.1.4.1 Controle biológico de *Rotylenchulus reniformis*

Uma planta doente pode ser vista como a interação entre o hospedeiro, o patógeno e não patógenos, que habitam o mesmo sítio de infecção sob influência ambiental (BETTIOL, 1991). Esses organismos não patogênicos podem apresentar potencial de controle parcial ou total nas atividades dos patogênicos, ou ainda aumentar a resistência no hospedeiro. Assim, os antagonistas interagindo em um sistema biológico com hospedeiro e patógeno, em conformidade com as condições ambientais, podem

reduzir as ações determinantes da doença realizadas por um ou mais organismos, que não o homem (COOK e BAKER, 1993; SANTIN, 2008).

Recentemente, no Brasil, diversas espécies de microrganismos como *Trichoderma harzianum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum*, *Bacillus firmus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. methylophilus*, *B. licheniformis* e *Pasteuria nishizawae* já estão registradas para o controle de diversos fitonematoides. No entanto, até o momento há apenas um produto biológico registrado para o controle de *R. reniformis*, a bactéria *B. amyloliquefaciens* (AGROFIT, 2019).

Fungos como o gênero *Trichoderma* são conhecidos há décadas como agente importante no controle biológico de doenças de plantas, tendo entre seus mecanismos antagônicos a competição, antibiose e micoparasitismo direto (VINALE et al., 2009). Pesquisas envolvendo *T. harzianum* e fitonematoides voltam-se principalmente para o controle do gênero *Meloidogyne* (MUKHTAR et al., 2013). No que concerne a *T. harzianum* e *R. reniformis*, raros são os trabalhos encontrados em literatura, os poucos existentes, como o de Haggag e Armin (2001) mostraram a eficiência do fungo em reduzir a doença em plantas de girassol. Outro mais recente aponta que filtrados do fungo proporcionaram uma redução significativa *in vitro* de fêmeas e da massa de ovos do nematoide reniforme (BOKHARI, 2009).

Pochonia chlamydosporia (sin. *Verticillium chlamydosporium*), desde que foi encontrado em associação com fitonematoides, vem sendo largamente estudado pelo seu potencial como agente de biocontrole (ESTEVEZ et al., 2009). Além de promover um controle eficiente dos nematoides, quando na ausência destes, *P. chlamydosporia* é capaz de sobreviver na rizosfera de muitas plantas e de utilizar matéria orgânica como fonte adicional de nutrientes (COUTINHO et al., 2009). É um parasita facultativo de ovos dos nematoides das galhas e do cisto e seu processo infeccioso envolve a produção de enzimas que removem a membrana proteica do ovo, expondo a camada subjacente de quitina (MORTON et al., 2003). Já para o nematoide reniforme, um estudo feito por Wang et al. (2005) mostrou que *P. chlamydosporia* reduziu o número de nematoides no solo e nas raízes de algodão por meio do parasitismo dos ovos.

O fungo *Purpureocillium lilacinum* é um microrganismo de solo, distribuído mundialmente, que tem se mostrado efetivo no controle de fitonematoides (SANTIAGO et al., 2006). O forte antagonismo exercido pelo fungo ocorre por meio da penetração dos ovos do nematoide e destruição do embrião. Além disso, as fêmeas podem ser colonizadas e mortas pelo fungo (SANTIN, 2008). Os poucos estudos existentes para *R. reniformis*, como o de

Castillo et al. (2010) e Walters e Barker (1994), apontaram diminuição na população do fitonematoide quando na presença do antagonista.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação, localizada no Departamento de Fitopatologia e Nematologia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, no município de Piracicaba- SP (Coordenadas: 22° 42’ 13” S e 47° 38’ 00 W, altitude de 528 m). A cultivar testada foi a do tipo pele de sapo (Asturia) e suas sementes foram cedidas pela Sakata® Seed Sudamerica. Os produtos utilizados foram Ecotrich (*Trichoderma harzianum*) e Nemat (*Purpureocillium lilacinum*) cedidos pela Ballagro® Agro Tecnologia Ltda, e Rizotec (*Pochonia chlamydosporia*), pela Stoller® do Brasil Ltda. O substrato utilizado nos ensaios era previamente autoclavado (121°C por 2h) e classificado como do tipo médio arenoso (85% de areia, 1% de silte e 14% de argila).

Foram realizados quatro experimentos em casa-de-vegetação, cujo delineamento experimental foi inteiramente casualizado. O primeiro e segundo experimentos, analisaram a penetração das fêmeas imaturas de *R. reniformis* em raízes de meloeiro. Já no terceiro e quarto, o desenvolvimento das plantas e a reprodução do nematoide reniforme a partir da massa seca da parte aérea (MAS), massa fresca das raízes (MFR), número de nematoides por grama de raiz (Nem/g) e variação populacional (Var. Pop.).

2.1 Tratamentos

Os produtos biológicos testados não possuem recomendação para o nematoide *R. reniformis* (AGROFIT, 2019). Assim, admitiu-se a dosagem utilizada para o controle de outros nematoides, como o produto Rizotec® para *Meloidogyne javanica* e Nemat® para *M. incognita*. Já para Ecotrich®, utilizou-se a mesma dosagem de Rizotec®, visto que o produto em questão não apresenta recomendação para o controle de nematoides (AGROFIT, 2019).

Tais dosagens, apresentadas em gramas do produto comercial por ha, foram aplicadas admitindo-se 10.000 plantas por hectare. Além das dosagens de bula, aplicaram-se tratamentos com cinco vezes o valor de bula.

Assim, para o produto biológico *P. chlamydosporia* (Rizotec®), o qual é indicado de 2 a 3 kg/ha, utilizou-se do produto comercial 0,2 grama ($1,04 \cdot 10^7$ clamidósporos) por planta (g/planta) na dose de bula, e 1 g/planta ($5,2 \cdot 10^7$ clamidósporos), cinco vezes o valor recomendado. De igual modo para *T. harzianum* (Ecotrich®), as dosagens foram de 0,2 g/planta ($2 \cdot 10^9$ UFC) e 1 g/planta ($1 \cdot 10^{10}$ UFC). Por fim, *P. lilacinum* (Nemat®) 0,06 g/planta ($4,5 \cdot 10^8$ UFC) e 0,3 g/planta ($2,25 \cdot 10^9$ UFC).

2.2. Obtenção dos inóculos

O inóculo foi obtido do solo e das raízes de meloeiro (mantidos em casa-de-vegetação), por meio da técnica de funil de Baermann modificado (CRAIG e FAUST, 1951; RUGAI et al., 1954). Após 48 horas em BOD a 28°C, as suspensões foram recolhidas, analisadas sob microscópio de luz e contabilizadas em lâmina de Peters.

2.3 Ensaio de penetração de fêmeas imaturas de *Rotylenchulus reniformis* em raízes de meloeiro cv. Asturia

Foram realizados dois experimentos de penetração, o primeiro ocorrendo entre os dias 04/02/2019 e 18/02/2019 e o segundo, 05/04/2019 e 18/04/2019.

As temperaturas médias, máximas e mínimas para o primeiro e segundo experimento foram: 22,8 e 22,4 °C; 27,3 e 28,7 °C; e 19,4 e 18°C.

Os experimentos foram compostos por sete tratamentos, com seis repetições. Assim, seguem listados os tratamentos e suas respectivas descrições: tratamento 1 (testemunha- sem controle biológico), tratamento 2 (*P. chlamydosporia*- Rizotec® - 0,2 g/planta), tratamento 3 (*P. chlamydosporia*- Rizotec® - 1 g/planta), tratamento 4 (*P. lilacinum*- Nemat® - 0,06 g/planta), tratamento 5 (*P. lilacinum*- Nemat® - 0,3 g/planta), tratamento 6 (*T. barzianum*- Ecotrich® - 0,2 g/planta) e tratamento 7 (*T. barzianum*- Ecotrich® - 1 g/planta).

2.3.1 Preparo das parcelas

Cada parcela foi composta por um copo plástico de 80 ml contendo 50 ml de substrato, agentes microbiológicos (tratamentos 2-7) e uma plântula de melão.

Os produtos biológicos foram pesados diretamente nos copos, com o auxílio de uma balança de precisão. Posteriormente, adicionou-se solo, misturando o conteúdo com uma espátula. As parcelas foram irrigadas na sequência, semeando-se duas sementes de melão por vaso. Anteriormente às inoculações, houve o desbaste aos nove e dez dias após o plantio para o primeiro e o segundo experimento respectivamente, deixando-se uma planta por vaso.

2.3.2 Inoculação de *Rotylenchulus reniformis*

Foram feitos dois furos a um centímetro do colo da planta com dois centímetros de profundidade, os quais receberam uma suspensão contendo 200 fêmeas imaturas (formas infectivas) mais formas móveis não contabilizadas (juvenis e machos) de *R. reniformis*. As inoculações ocorreram aos nove e dez dias após a semeadura para o primeiro e o segundo experimento, respectivamente.

2.3.3 Avaliação

Decorridos cinco dias da inoculação, as plantas foram avaliadas segundo a metodologia de Daykin e Hussey (1985). Desta forma, as raízes foram lavadas em água corrente para que o solo e outras impurezas fossem retirados. Seguiu-se sua imersão em uma solução contendo 50 ml de água mais 20 ml de NaOCl (5,25%), na qual permaneceram por quatro minutos. Novamente as raízes foram lavadas em água corrente por mais 45 segundos e deixadas por 15 minutos em um frasco contendo 50 ml de água de torneira para a remoção do NaOCl residual. As raízes foram então transferidas para um béquer de vidro contendo uma solução de fucsina ácida (1 ml de solução estoque diluída em 50 ml de água de torneira) e aquecidas por cerca de 30 segundos. Aguardou-se até que a solução contendo as raízes atingisse a temperatura ambiente. Após este processo, elas foram enxaguadas e transferidas para um recipiente contendo glicerina acidificada (1 L de glicerina mais 1 mL de HCl) e novamente foram aquecidas até o ponto de fervura.

Após o procedimento para coloração dos nematoides descrito acima, as raízes foram transferidas para frascos de vidro e armazenadas à temperatura ambiente até o momento da contagem. Para o processo de quantificação dos nematoides, as raízes foram colocadas em placas de Petri e analisadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

2.4 Ensaio da reprodução de *Rotylenchulus reniformis* e do desenvolvimento das plantas

Foram realizados dois experimentos (terceiro e quarto) em relação à reprodução do nematoide e ao desenvolvimento das plantas de meloeiro, os quais se analisaram as variáveis: massa seca da parte aérea, massa fresca das raízes, número de nematoides por grama de raiz e variação populacional.

Os períodos correspondentes aos experimentos ocorreram entre os dias 04/02/2019 e 01/04/2019, para o terceiro, e 05/04/2019 e 05/06/2019 para o quarto.

As temperaturas médias, máximas e mínimas para o terceiro e quarto experimentos foram: 26,8 e 21,3 °C; 34,8 e 28,2 °C; e 18,3 e 15,9°C.

Os experimentos foram compostos por sete tratamentos com oito repetições, conforme a descrição: tratamento 1 (testemunha- sem controle biológico), tratamento 2 (*P. chlamydosporia*- Rizotec®- 0,2 g/planta), tratamento 3 (*P. chlamydosporia*- Rizotec®- 1 g/planta), tratamento 4 (*P. lilacinum*- Nemat®- 0,06 g/planta), tratamento 5 (*P. lilacinum*- Nemat®- 0,3 g), tratamento 6 (*T. harzianum*- Ecotrich®- 0,2 g/planta) e tratamento 7 (*Trichoderma harzianum*- Ecotrich®- 1 g/planta).

2.4.1 Preparo das parcelas

Os primeiros preparos da parcela ocorreram em conformidade com o tópico 2.3.1. No entanto, aos nove dias para o terceiro experimento e dez para o quarto, as parcelas contendo as plantas e o substrato com os agentes de controle biológico foram transferidos para copos plásticos de 500 ml contendo 350 ml de solo previamente autoclavado e umedecido.

2.4.2 Inoculação de *Rotylenchulus reniformis*

As inoculações ocorreram aos nove dias após a semeadura para o terceiro experimento e dez para o quarto, juntamente com a transferência das parcelas dos copos plásticos menores (80 ml) para os maiores (500 ml).

Deste modo, anteriormente ao transplante, 1000 formas móveis de *R. reniformis* foram adicionadas ao solo contido no copo de 500 ml que, na sequência, recebeu as plântulas e o substrato com os agentes de controle biológico. Finalizado o transplante, foram feitos dois furos a um centímetro do colo da planta com um centímetro de profundidade, os quais receberam uma suspensão contendo mais 1000 formas móveis, totalizando 2000 por parcela.

2.4.3 Avaliação

Decorridos 46 dias da inoculação para o terceiro experimento e 48 para o quarto, a parte aérea das plantas foi cortada e acondicionada em sacos de papel. Estes permaneceram em casa-de-vegetação por 24h, transferidos na sequência para uma estufa de secagem a 60°C por mais um dia. As partes aéreas foram então pesadas em uma balança eletrônica. As raízes foram separadas do substrato, lavadas em água corrente, secadas com folhas de papel e pesadas.

Por fim, os nematoides foram extraídos do substrato pelo método de Jenkins (1964) e das raízes por Coolen & D'herde (1972) e quantificados em lâmina de Peters sob microscópio de luz.

Após a contabilização dos nematoides nas raízes e no substrato, mediu-se a variação populacional (P_f / P_i), dividindo-se a população final (P_f) de cada unidade experimental pela população inicial inoculada (P_i). Da mesma forma, para o número de nematoides por grama de raiz (nem/g), em que a população final calculada em cada parcela foi dividida pela massa da raiz.

2.5 Análises estatísticas

Dos dados foram obtidos a análise estatística, utilizando o *R statistical software* (R Core Team, 2013). A distribuição normal dos dados foi confirmada através do teste de normalidade

Shapiro-Wilk. A transformação de $\log(x+1)$ foi aplicada caso os dados não fossem satisfeitos pelos pré-requisitos do teste. Posteriormente, compararam-se as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS

3.1 Ensaio da penetração de fêmeas imaturas de *Rotylenchulus reniformis* em raízes de melão cv. Asturia.

No primeiro experimento (Tabela 1), as fêmeas imaturas de *R. reniformis* mostraram-se infectivas a uma taxa de 20,5%, visto que foram inoculadas em torno de 200 fêmeas imaturas e, ao final do quinto dia, contabilizou-se na testemunha uma média de 41 fêmeas.

No que tange à eficiência dos tratamentos, *P. lilacinum* (0,06 e 0,3 g/planta), *P. chlamydosporia* (0,2 e 1 g/planta) e *T. harzianum* (0,2 g/planta) não se diferenciaram estatisticamente da testemunha. Posto isso, permite-nos inferir que *P. chlamydosporia* não foi efetivo na dose de bula (0,2 g do produto comercial por parcela) nem a uma dose cinco vezes maior ao do valor recomendado (1 g/planta), tal como *P. lilacinum* (0,3 g/planta) e *T. harzianum* (0,2 g/planta). Já o tratamento *T. harzianum* (1 g/planta) foi o mais efetivo entre todos os tratamentos, diferenciando-se estatisticamente da testemunha e apresentando uma diminuição de aproximadamente 20% na penetração das fêmeas.

No segundo experimento (Tabela 1), todos os tratamentos analisados não apresentaram diferenças ao nível estatístico quando comparados à testemunha. Além disso, a taxa de penetração quantificada na testemunha foi de 17%, valor este inferior ao do primeiro ensaio (20,5%) e de outros tratamentos como *P. lilacinum* (0,06 e 0,3 g/planta), *T. harzianum* (0,2 e 1 g/planta) e *P. chlamydosporia* (1 g/planta), que obtiveram valores de penetração superiores ao da testemunha (34), com 39, 49, 50, 50 e 57 fêmeas contabilizadas nas raízes, respectivamente. Apenas o tratamento contendo *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta) alcançou um valor inferior ao da testemunha, com 24 fêmeas contabilizadas nas raízes.

Tabela 1. Efeito dos fungos *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma harzianum* na penetração de fêmeas imaturas de *Rotylenchulus reniformis* em meloeiro cultivar Asturia, aos cinco dias após a inoculação.

Tratamentos	Nº de fêmeas/raiz	
	1º Experimento	2º Experimento
Testemunha (s/ controle biológico)	41 a	34 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i> 0,3 g	41 a	49 a
<i>Pochonia chlamydosporia</i> 1 g	39 a	57 a
<i>Pochonia chlamydosporia</i> 0,2 g	34 a	24 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i> 0,06 g	28 ab	39 a
<i>Trichoderma harzianum</i> 0,2 g	23 ab	50 a
<i>Trichoderma harzianum</i> 1 g	8 b	50 a

Valores são médias de seis repetições. Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem entre si segundo o teste de Tukey a 5% de significância. No 2º experimento, para análise estatística, os dados foram transformados por $\log(x+1)$, sendo apresentados os dados originais.

3.2 Ensaio sobre a reprodução de *Rotylenchulus reniformis* e o desenvolvimento das plantas

A princípio, os tratamentos eram compostos por oito repetições, porém alguns foram perdidos em decorrência da morte das plantas. No terceiro experimento, os tratamentos 1, 2, 4, 5, 6 e 7 contaram com oito repetições e o tratamento 3, com sete repetições. Já no quarto experimento, os tratamentos 1, 5, 6 e 7 continham oito repetições, os tratamentos 2 e 4 sete repetições e o tratamento 3, cinco repetições.

As variáveis analisadas MSA, MFR, Nem/g e Var. Pop mostraram comportamentos diferenciados entre os tratamentos, principalmente no que concerne a um maior desenvolvimento das plantas tratadas com *T. harzianum* e o impacto negativo na reprodução do nematoide no tratamento utilizando *P. chlamydosporia* (1 g/planta).

Ao analisarmos a MSA (Tabela 2) no 3º experimento, é possível verificar que os tratamentos com *T. harzianum* colaboraram para um maior desenvolvimento das plantas, as quais atingiram uma massa seca de 2,37 g e 1,96 g na maior e menor dose, respectivamente. Por outro lado, *P. lilacinum* (0,06 g/planta) proporcionou a menor massa, com 1,60 g por planta, seguido por *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta) com 1,61 g. Apesar das diferentes massas, ao nível estatístico não houve diferenças entre os tratamentos com relação à testemunha. No

entanto, *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta) e *P. lilacinum* (0,06 g/planta), as menores massas, diferenciaram-se estatisticamente de *T. harzianum* (1 g/planta), a maior massa.

Tabela 2. Massa seca da parte aérea (MSA), em gramas, massa fresca das raízes (MFR), em gramas, variação populacional (Var. Pop.) e número de nematoides por grama de raiz (Nem/g) de *Rotylenchulus reniformis* em plantas de meloeiro cultivar Astúria tratadas com *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma harzianum*, aos 46 dias após a inoculação (dai).

Tratamentos	3º Experimento (46 dai)			
	MSA	MFR	Var. Pop.	Nem/g
<i>Trichoderma harzianum</i> 1 g	2,37 a	3,26 a	3,2 abc	1501 ab
<i>Trichoderma harzianum</i> 0,2 g	1,96 ab	3,20 a	4,1 abc	1816 ab
<i>Pochonia chlamydosporia</i> 1 g	1,82 abc	2,33 b	1,6 c	973 b
Testemunha	1,70 abc	3,07 ab	5,5 a	3027 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i> 0,3 g	1,69 abc	2,65 ab	2,8 bc	1526 ab
<i>Pochonia chlamydosporia</i> 0,2 g	1,61 bc	2,83 ab	3,0 abc	1595 ab
<i>Purpureocillium lilacinum</i> 0,06 g	1,60 c	2,27 b	4,5 ab	3081 a

Os valores são as médias de oito repetições (exceto *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta) com sete repetições. Nas variáveis massa seca aérea da parte aérea e nematoide por grama de raiz, os dados foram transformados por log (x+1), sendo apresentados os dados originais. Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem entre si segundo o teste de Tukey a 5% de significância

Na variável MFR (Tabela 2), os melhores resultados foram para os tratamentos com *T. harzianum* nas duas doses (1 e 0,2 g/planta), com valores de 3,26 e 3,20 g, respectivamente. Entretanto, esses dois tratamentos não se diferenciaram estatisticamente da testemunha, assim como o restante dos tratamentos. *P. chlamydosporia* (1 g/planta) e *P. lilacinum* (0,06 g/planta) exibiram um sistema radicular menos vigoroso, com valores de MFR de 2,33 e 2,27 g de raízes, respectivamente, diferenciando-os de *T. harzianum* ao nível estatístico.

Com relação ao Nem/g (Tabela 2), o tratamento *P. lilacinum* (0,06 g/planta) apresentou o maior valor, 3081, colocando-o estatisticamente no mesmo grupo da testemunha (3037). De igual forma, *T. harzianum* (0,2 e 1 g/planta), *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta) e *P. lilacinum* (0,3 g/planta) apresentaram valores entre 1816 e 1501, não os diferindo estatisticamente da testemunha. Em oposição, o tratamento com *P. chlamydosporia* (1 g/planta) apresentou o menor valor para Nem/g, 973.

Para a Var. Pop. (Tabela 2), o tratamento *P. chlamydosporia* (1 g/planta) apresentou o melhor resultado, com a menor variação populacional 1,6, em oposição à testemunha, que obteve o maior valor, 5,5. Os demais tratamentos *P. lilacinum* (0,06 g/planta), *T. harzianum* (0,2

g/planta), *T. barzianum* (1 g/planta), *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta) e *P. lilacinum* (0,3 g/planta) apresentaram valores entre 4,5 a 2,8 vezes a populacional inicial.

No 4º experimento, a variável MSA (Tabela 3) não apresentou diferenças ao nível estatístico entre os tratamentos. Em contrapartida, na variável MFR (Tabela 3), *T. barzianum* (1 g/planta) exibiu o maior valor (3,16 g), diferenciando-o estatisticamente da testemunha (1,92 g). Os demais tratamentos se apresentaram estatisticamente semelhantes à testemunha com valores entre 2,69 e 2,16 g.

O Nem/g (tabela 3) para os tratamentos *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta), *P. lilacinum* (0,06 g/planta) e *T. barzianum* (0,2 g/planta) não se diferenciou estatisticamente da testemunha, apresentando os valores 7596, 7357, 6731 e 7486, respectivamente. Assim como, *P. lilacinum* (0,3 g/planta) e *T. barzianum* (1 g/planta) que apresentaram valores menores, 6100 e 5990, mas não suficientes para diferenciá-los da testemunha ao nível estatístico. Por fim, o tratamento com *P. chlamydosporia* na maior dose mostrou o menor número de nematoides quantificados nas raízes (3319), o qual o diferenciou estatisticamente da testemunha.

Na Var. Pop. (Tabela 3), apenas o tratamento *P. chlamydosporia* (1 g/planta) diferiu estatisticamente da testemunha, apresentando o valor de 6,9, sendo este o tratamento com a menor taxa de multiplicação do nematoide. Por outro lado, *P. lilacinum* (0,06 g/planta) exibiu o maior valor, 17,1. Para os tratamentos *T. barzianum* (1 g/planta); *P. lilacinum* (0,3 g/planta); *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta); *T. barzianum* (0,2 g/planta) os valores correspondentes foram 16,7; 16,4; 16,2 e 16,0, respectivamente.

Tabela 3. Massa seca da parte aérea (MSA), em gramas, massa fresca das raízes (MFR), em gramas, variação populacional (Var. Pop.) e número de nematoides por grama de raiz (Nem/g) de *Rotylenchulus reniformis* em plantas de meloeiro cultivar Asturia tratadas com *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma harzianum*, aos 48 dias após a inoculação (dai).

Tratamentos	4º Experimento (48 dai)			
	MSA	MFR	Var. Pop.	Nem/g
<i>Trichoderma harzianum</i> 1 g	3,25 a	3,16 a	16,7 a	5990 ab
<i>Trichoderma harzianum</i> 0,2 g	3,40 a	2,34 ab	16,0 a	7357 a
<i>Pochonia chlamydosporia</i> 1 g	1,68 a	2,16 ab	6,9 b	3319 b
Testemunha	3,00 a	1,92 b	14,1 a	7486 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i> 0,3 g	3,56 a	2,69 ab	16,4 a	6100 ab
<i>Pochonia chlamydosporia</i> 0,2 g	3,80 a	2,28 ab	16,2 a	7596 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i> 0,06 g	2,06 a	2,25 ab	17,1 a	6731 a

Os valores são as médias de oito repetições (exceto *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta), *P. lilacinum* (0,06g/planta) com sete e *P. chlamydosporia* (1 g/planta) com cinco repetições). Nas variáveis massa seca da parte aérea e massa fresca das raízes, os dados foram transformados por $\log(x+1)$, sendo apresentados os dados originais. Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem entre si segundo o teste de Tukey a 5% de significância.

4. DISCUSSÃO

No primeiro experimento, o fungo *T. harzianum* mostrou-se muito promissor em reduzir a penetração das formas infectivas do nematoide. Trabalhos anteriores mostraram que o fungo em questão possui diversos mecanismos antagônicos, como competição, antibiose e parasitismo direto (ELAD, 2000; VINALE et al., 2009), fatores estes que podem ter influenciado as fêmeas vermiformes no solo antes da penetração. Além disso, outros estudos verificaram que o biocontrole não está relacionado apenas à produção de antibióticos ou estabelecimento de relações parasitárias de efeito direto nos patógenos, mas também com indução de resistência sistêmica na planta quando submetida à situações de estresses bióticos e abióticos (MASTOURI et al., 2010). No presente trabalho notou-se a intervenção de *T. harzianum* na penetração das fêmeas infectantes, porém qual(is) mecanismos estão envolvidos ainda não estão bem esclarecidos, ainda que trabalhos como o de Mukhtar et al. (2013) tenham mostrado que os conidióforos produzidos pelo antagonista sejam capazes de atacar os diferentes estágios de *M. incognita*, ou o de Sharon et al. (2001), que usaram extratos do fungo em juvenis de segundo estágio de *M. javanica* e constataram seu impacto negativo nessas formas móveis.

Em contrapartida, os tratamentos contendo *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* não apresentaram diferenças ao nível estatístico da testemunha. Estes resultados enquadram-se na normalidade do que se espera para eles, ou seja, baixa intervenção nas fêmeas infectivas móveis no solo (DIAS-ARIEIRA et al., 2011), uma vez que esses antagonistas são conhecidos pela ação parasita de ovos, que ao produzirem enzimas, expõem a camada subjacente de quitina utilizada pelos fungos (MORTON et al., 2003; SANTIAGO et al., 2008).

No segundo experimento, os resultados não foram condizentes com o do primeiro, uma vez que a taxa de penetração na testemunha ficou abaixo da maioria dos tratamentos, exceto para *P. chlamydosporia* (0,2 g/planta). Assim como, esperava-se um controle por parte de *T. harzianum* ao compará-lo com os demais tratamentos. Tal situação pode ter ocorrido, de forma geral, em razão da baixa eficácia dos produtos biológicos, pois mesmo dentro da validade, eles já haviam sido abertos e utilizados, ficando armazenados por 60 dias (BOD a 10°C) antes de serem usados novamente. É importante ressaltar a importância da viabilidade das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) no sucesso do controle biológico (SHARON et al., 2001). Acredita-se que os 13 dias decorridos do momento da aplicação dos fungos até a avaliação do teste de penetração foram insuficientes para que as estruturas fúngicas viáveis remanescentes pudessem se multiplicar a um nível que impactasse nos resultados. Justifica-se a isso o fato de que, nos ensaios de desenvolvimento das plantas e reprodução do nematoide,

houve interferência por parte dos antagonistas, visto que tiveram um intervalo de 60 dias para que ocorresse a multiplicação dos fungos nas parcelas.

A respeito do desenvolvimento do meloeiro, notou-se que as plantas tratadas com *T. harzianum* nas duas doses impactaram positivamente no aumento da MSA e MFR, quando comparadas à testemunha e aos demais fungos, sendo que a maior dose (1 g/planta) foi ainda mais efetiva nestes parâmetros quando comparada à menor dose (0,2 g/planta). Algumas espécies de *Trichoderma*, a exemplo de *T. harzianum*, são consideradas simbioses endofíticas, devido à capacidade de colonizarem os espaços intercelulares nas raízes, trazendo múltiplos benefícios às plantas, como a promoção do crescimento (SAMOLSKI et al., 2012). Sofo et al. (2011) verificaram que plantas de cerejeira tratadas com o fungo apresentaram um acréscimo de 76% no sistema radicular e 61% na parte aérea, quando comparadas às não inoculadas. Neste trabalho, eles observaram que o fungo induzia o aumento na produção dos fitormônios auxina e citocinina produzidos pela planta, os quais são responsáveis pela emergência das raízes laterais e adventícias, divisão e diferenciação celular, desenvolvimento dos cloroplastos e expansão foliar.

Nos tratamentos contendo *P. lilacinum*, quando se comparam as duas doses entre si (0,06 e 0,3 g/planta), observa-se que a maior dose exibiu resultados superiores ao da menor dose, tanto na MSA quanto na MFR, indicando que a aplicação recomendada em bula não interferiu nas variáveis acima citadas, ou ainda se mostrando inferior à testemunha no terceiro experimento. Tal premissa, no entanto, vai de encontro com alguns trabalhos que testaram doses menores de UFC do fungo e verificaram um maior desenvolvimento das plantas quando comparadas à testemunha. A exemplo de Hajji et al. (2016), que verificaram um aumento da parte aérea e das raízes de plantas de batata (*Solanum tuberosum*) tratadas com *P. lilacinum* ($1. 10^8$ UFC). Assim como Chaudhary e Kaul (2012), que notaram que plantas de pimenta tratadas com o fungo a uma dose de 0,06 g/planta tiveram um acréscimo de 11% na MSA e 15% na MFR.

Os resultados para *P. chlamydosporia* mostraram-se divergentes entre si, pois no terceiro experimento a parte aérea da menor dose (0,2 g/planta) mostrou-se inferior à maioria dos tratamentos (exceto *P. lilacinum* 0,06 g/planta); entretanto, no quarto experimento, exibiu a maior massa entre eles. Já *P. chlamydosporia* (1 g/planta), no terceiro ensaio, apresentou MSA com valor mediano (maior do que a testemunha), contudo no quarto ensaio foi o pior tratamento. Da mesma forma, para a MFR, no terceiro experimento ambas as doses apresentaram valores menores que a testemunha, porém no quarto experimento, ambas foram

maiores do que a mesma. Desse modo, os resultados que mostraram maior desenvolvimento da planta são os mais cabíveis, pois esse fungo possui a capacidade de colonizar as raízes endofiticamente, promovendo o crescimento do hospedeiro a partir de fitormônios (MACIÁ-VICENTE et al., 2009b; FARIAS et al., 2018). Monfort et al. (2005) verificaram a promoção de crescimento em plantas de trigo tratadas com o fungo, observando maior produção de reguladores de crescimento. Maciá-Vicente et al. (2009b) mostraram que o uso de *P. chlamydosporia* claramente promoveu maior crescimento de plantas de cevada quando comparadas à testemunha.

No que concerne à variação populacional, *P. chlamydosporia* (1 g/planta) foi o único tratamento a diferir da testemunha nos dois ensaios. No terceiro experimento, o controle efetuado por este antagonista foi proporcionalmente maior se comparado ao quarto. Em razão da diferença de temperatura entre os experimentos, supõe-se que no quarto ensaio o controle exercido pelo fungo antagonista poderia ter sido maior, visto que a temperatura média em comparação ao terceiro experimento foi 5,5 °C menor. Tal suposição encontra fundamento em trabalhos como Lopes et al. (2007) e Dias- Arieira et al. (2011), os quais apontaram que a eficiência do antagonista em parasitar ovos é muito dependente da temperatura do solo e do estágio de desenvolvimento embrionário do fitoparasita. *Rotylenchulus reniformis* é um patógeno com alta dependência da temperatura para completar o seu ciclo de vida (TORRES et al., 2006c). Heald (1975) verificou que na temperatura de 27°C a maturação das fêmeas do nematoide reniforme ocorria em seis dias, com o início da secreção da matriz gelatinosa ao 7º dia e oviposição ao 10º. Por outro lado, à uma temperatura de 21°C, a fêmea tornava-se madura aos nove dias, secretava a matriz ao 11º dia e iniciava a deposição de ovos ao 15º. Para parasitar os ovos, *P. chlamydosporia* precisa atravessar a matriz gelatinosa, a qual confere proteção aos mesmos, tornando-o assim um antagonista de ação lenta (SILVA et al., 2017). Desta forma, se a invasão microbiana é demorada e as altas temperaturas permitem que ocorra uma eclosão mais rápida dos J2, o parasitismo pode ser menos eficiente, pois a eclosão do nematoide ocorre antes da chegada do fungo (ABRANTES et al., 2002). Assim, com o metabolismo mais lento e demora na eclosão em decorrência da menor temperatura no quarto experimento, *P. chlamydosporia* poderia ter sido mais efetiva.

Trichoderma harzianum não apresentou resultados estatísticos significativos de redução na variação populacional quando comparado à testemunha. Entretanto, trabalhos como o de Sahebani e Adavi (2008) constataram controle eficiente de *M. javanica* pelo antagonista, por meio da produção de quitinase pelo fungo, a qual é utilizada no parasitismo do ovo, além da maior produção de enzimas no hospedeiro como peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina

amônia liase, importantes na indução de resistência da planta. Em outro trabalho, Bokhari (2009) verificou a habilidade do fungo em penetrar os ovos de *R. reniformis* e diminuir intensamente sua população a ponto de não serem detectados nematoides em raízes de berinjela.

Purpureocillium lilacinum na maior dose foi mais efetivo no controle do nematoide, quando comparado à menor dose, sendo que no terceiro experimento alcançou 50% de controle comparado à testemunha. Kiewnick e Sikora (2006), trabalhando com diferentes doses do antagonista em interação com *M. incognita*, constataram que a aplicação de 0,1 g por parcela reduzia em até 66% a população final em relação à dose cinco vezes menor (0,02) do produto biológico. Entretanto, no quarto experimento *P. lilacinum* (0,3 g/planta) apresentou variação populacional maior que a testemunha. De forma geral, quando se utiliza *P. lilacinum* como agente de biocontrole para fitonematoides, espera-se um controle satisfatório, pois a exemplo de *P. chlamydosporia*, é um fungo conhecido pelo parasitismo direto de ovos e fêmeas do gênero *Meloidogyne* e *Heterodera* (HERRERO, 2016). Além disso, é conhecido pela produção de paecilotoxina, um metabólito secundário importante no controle de espécies como *M. incognita* (PRASAD et al., 2015).

Por fim, em relação ao número de nematoides por grama de raiz, os resultados foram semelhantes àqueles encontrados na variação populacional, isto é, *P. chlamydosporia* na maior dose (1 g/planta) foi a mais efetiva entre todos os tratamentos. *Purpureocillium lilacinum*, também na maior dose (0,3 g/planta), foi mais efetivo do que a menor dose (0,06 g/planta), apresentando valores menores do que a testemunha nas duas repetições. Por outro lado, *T. harzianum* apresentou um padrão um pouco diferente, já que na maior dose (1 g/planta) apresentou o segundo melhor resultado entre os tratamentos. Talvez tal resultado seja consequência do maior desenvolvimento radicular da planta, o que permitiu melhor distribuição dos nematoides nas raízes.

De forma geral, acredita-se que a baixa viabilidade dos fungos na segunda repetição tenha impactado negativamente os resultados, principalmente na variação populacional e número de nematoides por grama de raiz.

5. CONCLUSÕES

Entre os fungos antagonistas (*Trichoderma harzianum*, *Purpureocillium lilacinum* e *Pochonia chlamydosporia*) e suas diferentes doses, o mais promissor no controle de *R. reniformis* em mudas de meloeiro tipo Pele de Sapo cv. Asturia foi *P. chlamydosporia* na maior dosagem.

REFERÊNCIAS

- ABRAFRUTAS, Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados. Estatística de exportação de frutas no primeiro semestre de 2019. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/2019/07/17/estatistica-de-exportacoes-de-frutas-no-primeiro-semester-de-2019/>>. Acesso em: 25/11/2019.
- ABRANTES, I. et al. A Manual for Research on *Verticillium chlamydosporium*, a Potential Biological Control Agent for Root-Knot Nematodes. KERRY, B.R. y BOURNE, J.M. (Eds.). IOBC/WPRS, University of Gent, 84 p., 2002.
- AGROFIT, AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <<http://agrofit.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15/11/2019.
- ASMUS, G. L., ISHIMI, C. M.. Flutuação populacional de *Rotylenchulus reniformis* em solo cultivado com algodoeiro. **Embrapa Agropecuária Oeste-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2009.
- BARRETO, A. V. et al. Identificação e diversidade genética de *Rotylenchulus reniformis* em áreas de cultivos de meloeiro (*Cucumis melo* L.). Dissertação de Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró- RN, 2018.
- BARRETO, A. V. et al. Reação de cultivares de Meloeiro ao Nematóide Reniforme. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 231-235, 2008.
- BESSA, M. A. D. et al. Bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.): processamento e caracterização. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 21, p. e2017217, 2018.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. (doc. 15:33-51; 224-233).
- BITENCOURT, N. V., SILVA, G. S. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 181-183, 2010.
- BOKHARI, F. M. Efficacy of some *Trichoderma* species in the control of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.42, n.4, p.361-369, 2009.
- BURGER, Y. et al. A single recessive gene for sucrose accumulation in *Cucumis melo* fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 127, n. 6, p. 938-943, 2002.

CASTILLO, J. D., LAWRENCE, K. S., KLOEPPER, J. W. & VAN SANTEN, E. Evaluation of *Drechslerella dactyloides*, *Drechslerella brochopaga*, and *Paecilomyces lilacinus* for the biocontrol of *Rotylenchulus reniformis*. **Nematropica**, v. 40, p. 71-85, 2010.

CHAUDHARY, K. K. et al. Compatibility of *Pasteuria penetrans* with fungal parasite *Paecilomyces lilacinus* against root knot nematode on chilli: *Capsicum annuum*. **South Asian Journal of Experimental Biology**, v. 1, n. 1, p. 36-42, 2012.

COOK, R.J., BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul, p. 539, 1993.

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

COSTA, N. D. A cultura do melão. **Área de Informação da Sede-Col Criar Plantar ABC 500P/500R Saber (INFOTECA-E)**, 2008.

COSTA, N.D. Cultivo do Melão. Petrolina: Embrapa Semi Árido, 67p. (Circular Técnica, 59), 2000.

COUTINHO, M.M. et al. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 169-175, 2009.

COSTA e DIAS. Sistemas de Produção de Melão. Embrapa Semiárido. Sistemas de Produção, 5. ISSN 1807-0027 Versão Eletrônica Ago/2010.

CRAIG, C. F. e FAUST, E. C. - Clinical Parasitology. Lea & Febiger. Philadelphia, 1951.

DANTAS, A. C. A. et al. Caracterização molecular de acessos de melão coletados no Nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 1, p. 183-189, 2012.

DAYKIN, M. E., HUSSEY, R. S. Staining and histopathological techniques in nematology. In: BARKER, K.R., CARTER, C.C., SASSER, J.N. (Eds.). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Department of Plant Pathology and US Agency for International Development, Raleigh, 1985.

DAVIS, R. F. et al. *Rotylenchulus reniformis* management in cotton with crop rotation. **Journal of Nematology**, v. 35, n. 1, p. 58, 2003.

DE ALMEIDA, J. A. et al. Tratamento de sementes com abamectina e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de *Heterodera glycines* na cultura da soja. **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 4, p. 62-65, 2018.

DE CASTRO TORRES, G. R. Nematofauna associada ao meloeiro em uma área de cultivo no Rio Grande do Norte, reação de genótipos de cucurbitáceas a *Rotylenchulus reniformis*, caracterização e sobrevivência do parasito. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 4, p. 162-184, 2007.

DE FIGUEIREDO, M. C. B. et al. Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica. **Embrapa Agroindústria Tropical-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2017.

DELWING, A. B. et al. Qualidade de sementes de acessos de melão crioulo (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 187-194, 2007.

DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 9, n. 3-4, p. 561-563, 2011.

DINIZ, G.M.M. Controle genético da resistência de *Capsicum frutescens* à *Meloidogyne enterolobii*. Tese de Doutorado em Agronomia. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal- SP, 2016.

ELAD, Y. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop Protection**, v. 19, p. 709-714, 2000.

ESTEVES, I. et al. Production of extracellular enzymes by different isolates of *Pochonia chlamydosporia*. **Mycological Research**, v. 113, p. 867-876, 2009.

FAO. FAOSTAT. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. 2018. Acesso em: 26/03/ 2020.

FARIAS, C. P. et al. Consortium of five fungal isolates conditioning root growth and arbuscular mycorrhiza in soybean, corn, and sugarcane. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3649-3660, 2018.

FREIRE, E. B. Levantamento populacional de fitonematoides em horta orgânica e convencional e análise dos atributos físico-químicos do solo. Trabalho de Conclusão de Curso. Instituto Federal do Sertão Pernambucano, Petrolina-PE, 2016.

FREITAS, V. M. et al. Host status of selected cultivated fruit crops to *Meloidogyne enterolobii*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 148, n. 2, p. 307-319, 2017.

GARDIANO, C.G. et al. Eficiência de espécies de adubos verdes sobre a população do nematoide reniforme. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 719-726, 2014.

HAGGAG, W.M., A. W. ARMIN. Efficiency of *Trichoderma* species on control of *Fusarium*-rot, root-knot and reniform nematodes disease complex on sunflower. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 3, p. 314-318, 2001.

HAJJI, L. et al. Biocontrol potential of *Verticillium leptoctrum* and *Purpureocillium lilacinum* against *Meloidogyne javanica* and *Globodera pallida* on potato (*Solanum tuberosum*). **American Journal of Potato Research**, v. 94, n. 2, p. 178-183, 2017.

HEALD, C. M. Pathogenicity and histopathology of *Rotylenchulus reniformis* infecting cantaloup. **Journal of Nematology**, v. 7, n. 2, p. 149, 1975.

HERRERO, N. A novel monopartite dsRNA virus isolated from the entomopathogenic and nematophagous fungus *Purpureocillium lilacinum*. **Archives of Virology**, v. 161, n. 12, p. 3375-3384, 2016.

IBGE. Produção Agrícola Municipal. 2019. Disponível:
<<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612>>. Acesso em: 16/03/2020.

IBRAF. Cresce demanda por melão pele de sapo no Brasil. 2015. Disponível em:
<<http://blogdoibraf.blogspot.com/2015/01/cresce-demanda-por-melao-pele-de-sapo.html>>. Acesso em: 27/11/2019.

ITO, L. A. et al. Resistência de porta-enxertos de cucurbitáceas a nematóides e compatibilidade da enxertia em melão. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 297-302, 2014.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, p. 692, 1964.

KIEWNICK, S., SIKORA, R. A. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. **Biological Control**, v. 38, n. 2, p. 179-187, 2006.

LEANDRO, H.M., ASMUS, G.L. Rotação e sucessão de culturas para o manejo do nematoide reniforme em área de produção de soja. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 945-950, 2015.

LIRA, V. L. et al. *Rotylenchulus reniformis* (Nematoda: Tylenchida): biologia, identificação, patogenicidade e manejo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 15, n. 2, p. 91-102, 2018.

LOPES, E. A. et al. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 78-84, 2007.

MACIÁ-VICENTE, J. G. et al. Real-time PCR quantification and live-cell imaging of endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*. **New Phytologist**, v. 182, n. 1, p. 213-228, 2009a.

MACIÁ-VICENTE, J. G. et al. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. **Annals of Applied Biology**, v. 155, n. 3, p. 391-401, 2009b.

MACHADO, A.C.Z. & INOMOTO, M.M. Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em dezoito hortaliças. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 346, 1999.

MASTOURI, F. et al. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology**, v. 100, p.1213-1221, 2010.

MEDEIROS, L. S. et al. Primeiro ciclo de seleção massal na população PM3 de melão (*Cucumis melo* L.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 4, p. 21-27, 2015.

MELLO, D. A. Avaliação econômica do cultivo da soja em rotação e sucessão de culturas: um estudo de caso no município de Ourinhos-SP. Dissertação de Mestrado em Agronomia. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu – SP, 2015.

MONFORT, E. et al. Colonisation of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and development of root-rot. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 7, p. 1229-1235, 2005.

MOURA, R. et al. Nematoses de alta importância econômica da cultura do melão no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 225, 2002.

MORTON, C.O. et al. Cloning of and genetic variation in protease VCP1 from the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Mycological Research**, v. 107, n. 1, p. 38-46, 2003.

MUKHTAR, T. et al. Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne incognita* in okra. **Phytopathologia Mediterranea**, v.52, p. 66-76, 2013.

NETSCHER, C., SIKORA, R. A. Nematode parasites of vegetables. In: LUC, M., SIKORA, R. A., BRIDGE, J. (Eds.). Plant-Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, UK., p. 237-283, 1990.

NUNES, O. M. et al. A produção familiar no município de Dom Pedrito: uma análise da cultura do melão entre 2005 e 2015. **Revista GEDECON-Gestão e Desenvolvimento em Contexto**, v. 6, n. 1, p. 1-22, 2018.

NUNES, G. H. S. et al. Reação de linhagens de melão amarelo ao parasitismo de *Rotylenchulus reniformis*. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 3271-3278, 2011.

NUNES, G. H. S. et al. Aspectos produtivos e de qualidade de híbridos de melão cultivados no agropolo Mossoró-Assu. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 744-747, 2004.

OLIVEIRA, F. I. C. et al. A cultura do melão. In: FIGUEIREDO, M. C. B., GONDIM, R. S., ARAGÃO, F. A. S. (Ed.). Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

PALOMARES-RIUS, J. E. et al. Prevalence and molecular diversity of reniform nematodes of the genus *Rotylenchulus* (Nematoda: Rotylenchulinae) in the Mediterranean Basin. **European Journal of Plant Pathology**, v. 150, n. 2, p. 439-455, 2018.

PALOMARES-RIUS, J. E. et al. Anatomical alterations in plant tissues induced by plant-parasitic nematodes. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1987, 2017.

PINHEIRO, J. B., AMARO, G. B. Ocorrência e controle de nematoides nas principais espécies cultivadas de cucurbitáceas. **Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2010.

PRASAD, P. et al. Whole genome annotation and comparative genomic analyses of bio-control fungus *Purpureocillium lilacinum*. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1004, 2015.

RUGAI, E.. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes-modificação do método de Baermann. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 14, n. 1, p. 5-8, 1954.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2016-2020, 2008.

SAKATA. Mercado de melão: lucro em moeda forte. 2009. Disponível em: <<https://www.sakata.com.br/blog/mercado-de-melao-lucro-em-moeda-forte/>>. Acesso em: 27/11/2019.

SALVIANO, A.M. et al. A cultura do melão (Coleção Plantar, 76). 3 ed. Brasília: Embrapa, 202p, 2017.

SAMOLSKI, I. et al. The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 129-138, 2012.

SANTIAGO, D. C. et al. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1055-1064, 2006.

SANTIN, R. C. M. Potencial do uso dos fungos *Trichoderma* spp. e *Paecilomyces lilacinus* 174 no controle de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris*. Tese de Doutorado em Fitotecnia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2008.

SECCO, L. B. et al. Germinação de sementes de melão (*Cucumis melo* L.) em condições de estresse salino. **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.

SHARON, E. et al. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p. 687-693, 2001.

SILVA, S. D. et al. Evaluation of *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* for suppression of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and banana. **Journal of Nematology**, v. 49, n. 1, p. 77, 2017.

SILVA, A. R. F. Divergência genética de acessos de meloeiro com base em caracteres dos frutos. **Embrapa Agroindústria Tropical-Tese/dissertação (ALICE)**, 2016.

SOFO, A. et al. *Trichoderma harzianum* strain T-22 induces changes in phytohormone levels in cherry rootstocks (*Prunus cerasus* × *P. canescens*). **Plant Growth Regulation**, v. 65, n. 2, p. 421-425, 2011.

SOARES, P. L. M. et al. Estudo morfométrico comparativo de populações de *Rotylenchulus reniformis* (Nemata: Rotylenchulinae) do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 292-297, 2003.

TEAM, R. Core et al. R: A language and environment for statistical computing, 2013.

TORRES, G. R.C. Nematofauna associada ao meloeiro em uma área de cultivo no Rio Grande do Norte, reação de genótipos de cucurbitáceas a *Rotylenchulus reniformis*, caracterização e sobrevivência do parasito. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 4, p. 162-184, 2007.

TORRES, G. R. C. et al. Aspectos ecológicos de comunidade de nematoides associada a cultivo de *Cucumis melo* no Rio Grande do Norte. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 1-9, 2006a.

TORRES, G.R.C. et al. Reações de Genótipos de Meloeiro e Melancia a *Rotylenchulus reniformis*. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p.17-21, 2006b.

TORRES, G. R. C. et al. Sobrevivência de *Rotylenchulus reniformis* em solo naturalmente infestado submetido a diferentes períodos de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 203-206, 2006c.

TORRES, G. R. C. et al. *Pratylenchus brachyurus* on *Cucumis melo* in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 668-669, 2004.

VARGAS, P. F. et al. Qualidade de melão rendilhado (*Cucumis melo* L.) em função do sistema de cultivo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, p. 137-142, 2008.

VALADARES, R. N. et al. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações em acessos de melão do grupo momordica. **Horticultura Brasileira**, v. 35, p. 557-563, 2017.

VIANA, F. M. P. et al. Recomendações para o controle das principais doenças que afetam a cultura do melão na região Nordeste. **Embrapa Agroindústria Tropical-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2001.

VINALE, F. et al. Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 2032–2035, 2009.

WANG, K. et al. Isolation, selection, and efficacy of *Pochonia chlamydosporia* for control of *Rotylenchulus reniformis* on cotton. **Phytopathology**, v. 95, p. 890-893, 2005.

WANG, Koon-Hui. Reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (Nematoda: Tylenchida: Tylenchoidea: Hoplolaimidae: Rotylenchulinae). University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS, 2001.

WALTERS, S. A. & BARKER, K. R. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* in suppressing *Rotylenchulus reniformis* on tomato. **Journal of Nematology**, v. 26, p. 600-605, 1994.