# Ocorrência de Meloidogyne spp. e Fungos Nematófagos em Hortaliças no Distrito Federal, Brasil

Regina M.D.G. Carneiro, Maria R.A. Almeida, Irene Martins, Janaína F. Souza, Alípio Q. Pires & Myrian S. Tigano

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. Postal 02372, 70849-970 Brasília (DF) Brasil. Autora para correspondência: recar@cenargen.embrapa.br

> Recebido para publicação em 20 / 11 / 2007. Aceito em 20 / 03 / 2008 Editado por Claudio Marcelo Oliveira

Resumo - Carneiro, R.M.D.G., M.R.A. Almeida, I. Martins, J.F. Souza, A.Q. Pires & M.S. Tigano. 2008. Ocorrência de Meloidogyne spp. e fungos nematófagos em hortaliças no Distrito Federal, Brasil.

Trinta e oito amostras de raízes e solo infectados por Meloidogyne spp. foram coletadas em hortaliças, em diferentes núcleos rurais do Distrito Federal. Com o objetivo de identificar as principais espécies, os fenótipos enzimáticos de esterase (Est) foram analisados, usando fêmeas maduras individualizadas. Das 38 amostras coletadas, 10 populações exibiram fenótipo Est J3, típico de M. javanica (pepino, quiabo, feijão vagem, cenoura, jiló, berinjela, almeirão e alface), 11 de M. incognita, Est I1 ou I2 (quiabo, feijão vagem, cenoura, jiló, berinjela, pimentão) e em seis amostras a ocorrência foi concomitante dessas duas espécies. M. ethiopica foi detectado em duas amostras parasitando raízes de iacom e tomateiro. As seis amostras restantes exibiram perfil Est L3 atípico (Rm: 0,95, 1,11,3) e foram detectadas em pepino, alface, brócolis, quiabo, feijão vagem e iacom. Foram obtidos de massas de ovos de Meloidogyne spp. cinco isolados de Paecilomyces lilacinus, um isolado de Beauveria bassiana e um isolado de Pochonia chlamydospora. Das amostras de solo da rizosfera de plantas parasitadas com Meloidogyne spp., foram obtidos 64 isolados de fungos das espécies B. bassiana, P. lilacinus e Metarhizium anisopliae Palavras-chave: eletroforese, esterase, fungos parasitas de ovos, identificação, nematóide das galhas.

Summary - Carneiro, R.M.D.G., M.R.A. Almeida, I. Martins, J.F. Souza, A.Q. Pires & M.R. Tigano. 2008. Occurrence of *Meloidogyne* spp. and nematophagous fungi on vegetables in the Federal District of Brazil.

Meloidogyne spp. were obtained from thirty-eight roots and soil samples collected from vegetables in different rural municipalities in the Federal District of Brazil. In order to identify the main species, esterase (Est) phenotypes were analyzed, using a single mature female. Ten samples of the 38 studied showed a typical Est J3 phenotype of M. jaranica (cucumber, okra, green bean, carrot, gilo, eggplant, bell pepper, chicory and lettuce), eleven were Est I1 or I2 of M. incognita (okra, green bean, carrot, gilo, eggplant and bell pepper and six samples were a mixture of the same species. M. ethiopica was found in two samples parasitizing yakon and tomato crops. The remaining six populations exhibited atypical Est L3 phenotype (Rm: 0.95, 1.11.3) and were detected on cucumber, lettuce, broccoli, okra, green-bean, and yakon. From the eggs of Meloidogyne spp, five strains of Paecilomyces lilacinus, one strain of Beauveria bassiana and one strain of Pochonia chlamydospora were isolated. From the soil samples collected with the infected roots, 64 fungi strains of the species B. bassiana, P. lilacinus and Metarhizium anisopliae were isolated.

Key words: electrophoresis, egg parasite fungi, esterase, identification, root-knot nematode.

# Introdução

Os nematóides formadores de galhas (Meloidogyne spp.) representam um dos principais problemas fitossanitários em hortaliças nos trópicos. A estimativa de perdas varia muito entre as diferentes culturas: 17 a 20 % para a berinjela, 18 a 33 % para o melão e 24 a 38% para o tomate. Em produção comercial intensiva, onde é realizado o cultivo de culturas suscetíveis em sequência, podem ocorrer perdas totais (Sikora & Fernandez, 2005). Existem poucos estudos sobre ocorrência de Meloidogyne spp. no Distrito Federal (DF). Um trabalho realizado por Souza et al. (1994), usando caracterização enzimática, mostrou a ocorrência de M. javanica e M. arenaria no cerrado nativo do DF, sendo observada a predominância da primeira espécie em relação à segunda. Recentemente, um patógeno exótico, M. ethiopica Whitehead, 1968, foi detectado no DF, causando sérios problemas à cultura do iacom (Carneiro et al., 2005).

Considerando a perspectiva de manejo integrado de pragas na agricultura, que visa à manutenção dos níveis populacionais de pragas em equilíbrio, o controle biológico pode exercer papel importante (Ferraz & Santos, 1995). Dentre os agentes de controle biológico de nematóides, os fungos que parasitam ovos são os que apresentam maior perspectiva de utilização, devido à facilidade de produção in vitro, e à possibilidade de algumas espécies colonizarem a rizosfera, sem prejuízo às raízes das plantas (Lopéz-Llorca et al., 2002). Os nematóides formadores de galhas depositam seus ovos em massas envoltas por uma substância gelatinosa de constituição lipoprotéica, o que facilita a rápida disseminação dos fungos endoparasitas (Carneiro, 1992). Esses fungos induzem desordens fisiológicas nos ovos, interrupção no desenvolvimento embriogênico e, em alguns casos, rompimento físico (Dackman et al., 1989). Além disso, são parasitas facultativos, o que facilita a multiplicação in vitro e a sobrevivência no solo (Ferraz & Santos, 1995). Apesar do elevado potencial do uso do controle biológico de pragas, tal prática ainda é pouco utilizada na agricultura no Brasil (Carneiro, 1992). No entanto, o emprego dos fungos agentes de controle biológico de pragas agrícolas tende a aumentar significativamente, dentro de um programa de manejo integrado, principalmente em culturas em que o controle químico não é recomendável (Sikora & Fernandez, 2005).

Este estudo teve como objetivos: i) identificar espécies de Meloidogyne em diferentes hortaliças no DF, com ênfase em M. ethiopica; ii) coletar, isolar e identificar fungos relacionados aos nematóides das galhas presentes no solo e em massas de ovos.

# Material e Métodos

Foram coletadas 38 amostras de raízes infectadas com Meloidogyne spp., em diversas hortaliças provenientes de diferentes núcleos rurais; dessas raízes foi retirada alíquota para a identificação dos nematóides e outra para identificação e isolamento dos fungos nematófagos. O solo aderente ao sistema radicular foi também coletado. De cada amostra, fêmeas foram retiradas isoladamente e submetidas à eletroforese de isoenzimas, de acordo com a metodologia descrita por Carneiro & Almeida (2001). A identificação das espécies de Meloidogyne foi feita pelo estudo do polimorfismo das esterases, conforme Janati et al. (1982), Esbenshade & Triantaphyllou (1985) e Carneiro et al. (1996, 2000, 2004b). Em todos os géis, o extrato protéico de M. javanica foi aplicado em uma cavidade para garantir o padrão de comparação dos fenótipos encontrados. Os padrões perineais foram cortados a partir de fêmeas, em ácido lático a 45 % e montados em glicerina (Taylor & Netscher, 1974).

As massas de ovos obtidas desses nematóides foram colocadas em câmaras úmidas. Em caso de aparecimento de estruturas de fungos na superfície dos ovos, foi realizado o isolamento em meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar), contendo antibiótico (250 mg de cloranfenicol / litro). Quanto ao isolamento de fungos a partir do solo, para cada amostra, foram utilizados três gramas em suspensão em 27 m/de água estéril, contendo espalhante adesivo (Tween 80 a 0,1 %). A partir de diluições seriadas, decimais de solo em água estéril, 100 µl da suspensão foram inoculados em placas de Petri com meio semiseletivo (Tigano-Milani et al., 1993). Após período de aproximadamente 10 dias de incubação em câmara de crescimento, a 28 °C, as colônias de fungos individualizadas foram retiradas e repicadas em meio de cultura BDA contendo antibiótico. A identificação dos fungos foi feita a partir de isolamentos purificados

em repicagens sucessivas em meio BDA, utilizando parâmetros morfológicos, relacionados aos conídios e conidióforos (Samson et al., 1988).

### Resultados e Discussão

Ocorrência de Meloidogyne spp. Das 38 amostras coletadas, 10 populações puras exibiram fenótipo de esterase (Est) J3 (Rm: 1,0, 1,25, 1,4) típico de M. javanica (pepino, cenoura, quiabo, jiló, berinjela,

feijão vagem, almeirão e alface), 11 puras de M. incognita, Est I1 (Rm:1,0) e I2 (Rm:1,0, 1,1), também detectado em várias culturas: quiabo, feijão vagem, cenoura, jiló, berinjela e pimentão. Oito amostras apresentaram espécies misturadas, sobretudo M. javanica e M. incognita (Tabela 1). Neste levantamento, M. ethiopica (Est E3, Rm: 0,9, 1,05, 1,25) foi detectado somente em duas localidades em populações puras, parasitando raízes de iacom e tomateiro (Tabela 1, Figura 1).

Tabela 1 - Espécies de Meloidogyne parasitando diferentes hortaliças em núcleos rurais do Distrito Federal.

Local	Cultura	Nome científico	Espécie	Perfil de esterase
Vargem Bonita	Pepino	Cucumis sativus	Meloidogyne sp.	L3
	Quiabo	Abelmoschus esculentus	M. incognita	I2
	Alface	Lactuca sativa	Meloidogyne sp.	L3
	Brócolis	Brassica oleracea var. italica	Meloidogyne sp.	L3
Pipiripau	Pepino	C. sativus	M. javanica	Ј3
	Feijão vagem	Phaseolus vulgaris	M. incognita	I2
	Cenoura	Daucus carota	M. incognita	I2
	Cenoura	D. carota	M. javanica	J3
	Quiabo	A. esculentus	M. jav + M. inc.	J3 + I2
Taquara	Cenoura	D. carota	M. jav + M. inc.	J3 + I1
	Quiabo	A. esculentus	M. javanica	J3
	Quiabo	A. esculentus	M. javanica	J3
	Quiabo	A. esculentus	M.incognita	I2
Alexandre Gusmão	Brócolis	B. oleracea var. italica	Meloidogyne sp.	L3
	Jiló	Solanum gilo	M. jav + M. inc	J3 + I2
	Berinjela	Solanum melongena	M. jav + M. inc	J3 + I2
	Iacom	Polymnia sonchifolia	M. ethiopica	E3
Ceilândia	Pepino	C. sativus	M. javanica	J3
	Quiabo	A. esculentus	M.jav.+ $M$ . sp.	J3 + L3
	Quiabo	A. esculentus	M. javanica	Ј3
	Beringela	S. melongena	M .incognita	Ĭ1
	Jiló	S. gilo	M.incognita	I1
	Quiabo	A. esculentus	M. javanica	J3
	Quiabo	A. esculentus	M. jav + M. inc	J3 + I2
Ponte Alta / Gama	Quiabo	A. esculentus	M.jav. + M. inc. + M.sp.	J3 + I2 + L3
	Quiabo	A. esculentus	M.incognita	I2
	Pimentão	Capsicum cordiforme	M.inc+M.sp.	I2+S2
Brazlândia	Feijão vagem	P. vulgaris	M .incognita	I2
	Cenoura	D. carota	M. incognita	I2
	Feijão vagem	P. vulgaris	Meloidogyne sp.	L3
	Quiabo	A. esculentus	M. javanica	J3
	Quiabo	A. esculentus	M. incognita	I2
Planaltina	Almeirão	Cichorium intybus	M. javanica	J3
	Alface	L. sativa	M. javanica	J3
	Jiló	S. gilo	M. javanica	J3
	Iacom	P. sonchifolia	Meloidogyne sp.	L3
	Alface	L. sativa	M. incognita	I2
Samambaia, CNPH	Tomate	Lycopersicon esculentum	M. ethiopica	E3

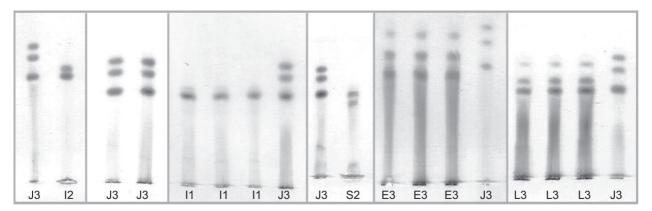


Figura 1 - Fenótipos de esterase (Est) detectados em populações de Meloidogyne spp. oriundas do Distrito Federal. M. javanica (Est J3) foi usada como referência em cada gel. Est I2 e I1=M. incognita; Est S2 = Meloidogyne sp.; Est E3=M. ethiopica; Est L3=Meloidogyne sp.

O fenótipo Est S2, associado a uma população de M. incognita foi detectado em pimentão (Tabela 1, Figura 1). Esse fenótipo apresenta duas bandas de atividade (Rm = 0,9, 1,05), sendo que a banda 0,9 é em geral mais fraca e a banda 1,05 é mais intensa Dessa maneira, Est S2 vem sendo relatado como Est S1 em alguns trabalhos. A configuração perineal dessa população foi semelhante a M. incognita.

O perfil atípico Est L3 (Rm: 0,95, 1,1 1,3) foi detectado em seis populações puras nas culturas de pepino, alface, brócolis, quiabo, feijão vagem e iacom (Tabela 1, Figura 1). Foi detectado também em populações mistas com M. javanica e M. incognita (Tabela 1). A configuração perineal dessa população não permitiu a identificação da espécie.

Rotineiramente, o reconhecimento da identidade de Meloidogyne spp. é feito por meio do exame da configuração perineal (Eisenback, 1985; Hirschmann, 1985). Porém, com o aumento rápido no número de espécies descritas no gênero, a identificação baseada na configuração perineal está se tornando cada vez mais inapropriada devido às variações já detectadas nesses padrões e, sobretudo, à similaridade e à sobreposição dessa característica entre espécies (Carneiro et al., 2000, 2003, 2004 a, b). Além disso, é comum o surgimento de populações com configurações perineais atípicas, o que aumenta a dificuldade de utilização dessa característica para fins taxonômicos. Desse modo, frente às dificuldades encontradas com a utilização da configuração perineal em trabalhos de diagnose no Brasil e no exterior, o uso da eletroforese de isoenzimas vem sendo proposto como o mais adequado em estudos de levantamento de Meloidogyne spp. O avanço alcançado com essa metodologia transformou-a numa ferramenta indispensável na diagnose diferencial (Janati et al., 1982, Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Fargette, 1987; Pais & Abrantes, 1989; Carneiro et al., 1996, 2000, 2004a,b, 2007; Castro et al., 2003; Cofcewicz et al., 2004, 2005).

Neste estudo, verificou-se que, predominantemente, as espécies de Meloidogyne foram detectadas em ocorrência isolada, mas sabe-se que é comum encontrar M. javanica associada a M. incognita ou a M. arenaria e, às vezes, a ocorrência concomitante dessas três espécies (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Pode-se destacar neste levantamento a ausência de M. arenaria em hortaliças, mas essa espécie foi recentemente detectada no DF, parasitando mamacadela, Brosimum gaudichaudii Trec (Carneiro et al., 2006).

A detecção de M. ethiopica nas mesmas culturas da detecção anterior, ou seja, tomate e iacom e em outras localidades, mostra que essa espécie foi provavelmente introduzida no DF a partir de tubérculos de iacom trazidos do Rio Grande do Sul. Esses tubérculos foram plantados inicialmente na Embrapa Hortaliças, na área em que atualmente existe um plantio de tomateiros, também infectados com M. ethiopica. Posteriormente, propágulos de iacom (rizóforos) foram distribuídos para alguns produtores (Carneiro & Almeida, 2005). Recentemente, M. ethiopica foi considerada espécie extremamente importante em videira no Chile, ocorrendo também no quivi. Cerca de 80 % das áreas levantadas estão altamente infestadas com essa espécie, inclusive todos os viveiros de videira e quivi amostrados (Carneiro et al., 2007), o que comprova a hipótese de sua entrada no Brasil a partir de mudas de quivi contaminadas.

O fenótipo S1/S2 foi caracterizado primeiramente por Esbenshade & Triantaphyllou (1985), sendo denominado S1-M1, e foi correlacionado com populações atípicas de M. arenaria. Recentemente, o perfil S1 foi identificado como M. incognita raça 1 em cafeeiros, baseado na região perineal, estilete da fêmea e vista de face dos machos (Oliveira et al., 2006). Esse fenótipo foi detectado em populações encontradas, concomitantemente com M. incognita, provenientes de área de soja (Glycine max) (Castro et al., 2003) e banana (Musa spp) (Cofcewicz et al., 2004) no Brasil. A identidade taxonômica desse isolado tem que ser esclarecida comparando-se várias populações de diferentes culturas, por meio de estudos morfológicos, morfométricos e moleculares.

O perfil de esterase L3 já fora detectado no Brasil, em lavanda no Rio Grande do Sul (Carneiro et al., 2000) e em videira no Chile (Carneiro et al., 2007). Esbenshade & Triantaphyllou (1985) detectaram o perfil L3 em três populações provenientes da América do Sul e uma da Turquia. Até o momento, a espécie ainda não foi identificada. Entretanto, duas possibilidades devem ser investigadas, a ocorrência de uma nova espécie ou de uma espécie já conhecida mas com o perfil de esterase ainda não caracterizado. Mais estudos devem ser realizados, com o intuito de esclarecer a identidade taxonômica da população Est L3, uma vez que 16 % das áreas amostradas no DF apresentaram esse padrão.

Fungos nematófagos. Das massas de ovos de Meloidogyne spp. analisadas, foram obtidos cinco isolados de Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson, um isolado de Pochonia chlamysdoporia (Goddard) Zare & W. Gams (= Verticillium chlamydosporium Goddard, Zare et al., 2001) e um isolado de Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. Das amostras de solo analisadas, foram obtidos 20 isolados de B. bassiana, 26 isolados de Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorok e 20 isolados de P. lilacinus (Tabela 2).

Levantamento para determinar a microflora em ovos e fêmeas de Meloidogyne spp. na China também mostrou que a espécie de fungo predominante foi P.

Tabela 2 - Fungos encontrados em ovos de Meloidogyne spp. e em solo na rizosfera de hortaliças infectadas no Distrito Federal.

Local	N°. de amostras	Fungos (nº. de isolados)		
		Ovos de <i>Meloidogyne</i> spp.	Solo	
Vargem Bonita	6	-	Beauveria bassiana (6)	
			Metarhizium anisopliae (4)	
			Paecilomyces lilacinus (2)	
Pipiripau	4	-	B. bassiana (3)	
			M. anisopliae (1)	
			P. lilacinus (1)	
Taquara	6	-	B. bassiana (5)	
_			M. anisopliae (4)	
			P. lilacinus (3)	
Alexandre Gusmão	4	-	B. bassiana (2)	
			M. anisopliae (3)	
			P. lilacinus (4)	
Ceilândia	7	P. lilacinus (4)	B.bassiana (3)	
			M. anisopliae (5)	
			P. lilacinus (5)	
Ponte Alta / Gama	4	P. lilacinus (1)	B. bassiana (1)	
			M. anisopliae (4)	
			P. lilacinus (4)	
Brazlândia	5	B. bassiana (1)	M. anisopliae (5)	
		Pochonia chlamydospora (1)	P. lilacinus (1)	

lilacinus (49,3 % dos isolados coletados) e que apenas 6,9 % dos isolados coletados foram da espécie P. chlamydosporia (Sun et al., 2006). No entanto, em uma investigação de fungos parasitas de ovos em solos espanhóis, P. chlamydosporia foi a espécie mais encontrada, principalmente de nematóides dos cistos, Heterodera spp. (Olivares-Bernabeu & López-Llorca, 2002). No Brasil, levantamento realizado em diferentes locais de quatro estados, mostrou alta incidência de Fusarium spp. em cistos de Heterodera glycines, mas não foi avaliado o potencial desses fungos no biocontrole do nematóide (Costa et al., 1997). Em análises de ocorrência de fungos patógenos de insetos em solos de diferentes regiões do Brasil, B. bassiana, M. anisopliae e P. lilacinus foram detectadas em grande frequência (Tigano-Milani et al., 1993). Os isolados obtidos neste trabalho foram armazenados em nitrogênio líquido (-196 °C) e sob liofilização, na Coleção de Culturas de Fungos Entomopatogênicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e alguns estão em teste em ensaios em casa-de-vegetação, para avaliação do potencial como agentes de controle biológico de Meloidogyne spp.

# Literatura Citada

- CARNEIRO, R.M.D.G. 1992. Princípios e tendências do controle biológico de nematóides com fungos nematófagos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 27: 113-121.
- CARNEIRO, R.M.D.G., M.R.A. ALMEIDA & R.G. CARNEIRO. 1996. Enzyme phenotypes of Brazilian isolates of Meloidogyne spp. Fundamental and Applied Nematolology, 19: 555-560.
- CARNEIRO, R. M. D. G., M.R.A. ALMEIDA & P. QUÉNÉHERVÉ. 2000. Enzyme phenotypes of Meloidogyne spp. populations. Nematology, 2:645-654.
- CARNEIRO, R.M.D.G. & M.R.A. ALMEIDA, 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. Nematologia Brasileira, 25: 555-560.
- CARNEIRO, R.M.D.G., W.A. MOREIRA, M.R.A. ALMEIDA & A.C.M.M. GOMES, 2001. Primeiro registro de Meloidogyne mayaguensis em goiabeira no Brasil. Nematologia Brasileira, 25: 223-228.
- CARNEIRO, R.M.D.G., C.B. GOMES, M.R.A. ALMEIDA, A.C.M. GOMES & I. MARTINS. 2003. Primeiro registro de Meloidogyne ethiopica Whitehead, 1968, em plantas de quivi no Brasil e reação em diferentes plantas cultivadas. Nematologia Brasileira, 27 (2): 151-158.

- CARNEIRO, R.M.D.G., M.S. TIGANO, O. RANDIG, M.R.A. ALMEIDA & J.L. SARAH. 2004a. Identification and genetic diversity of Meloidogyne spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. Nematology, 6: 37-47.
- CARNEIRO, R.M.D.G., O. RANDIG, M.R.A. ALMEIDA & A.C.M.M. GOMES. 2004b. Additional information on Meloidogyne ethiopica Whitehead, 1968, a root-knot nematode parasitizing kiwi and grape-vine from Brazil and Chile. Nematology, 6 (1): 109-123.
- CARNEIRO, R.M.D.G & M.R.A. ALMEIDA. 2005. Registro de Meloidogyne ethiopica Whitehead em plantas de yacon e tomate no Distrito Federal no Brasil. Nematologia Brasileira, 29 (2): 285-287.
- CARNEIRO, R.M.D.G., D.B. DA SILVA & M.R.A. ALMEIDA. 2006. Ocorrência de Meloidogyne arenaria em mama-cadela no Distrito Federal, Brasil. Nematologia Brasileira, 30 (1):95-96.
- CARNEIRO R.M.D.G, M.R.A. ALMEIDA, E.T. COFCEWICZ, J.C. MAGUNACELAYA & E. ABALLAY. 2007. Meloidogyne ethiopica a major root-knot nematode parasitizing Vitis vinifera and other crops in Chile. Nematology, 9 (5):635-641.
- CASTRO, J.M.C.E., R.D. LIMA & R.M.D.G. CARNEIRO. 2003. Variabilidade isoenzimática de populações de Meloidogyne spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. Nematologia Brasileira, 27: 1-12.
- COFCEWICZ, E.T., R.M.D.G. CARNEIRO, P. CASTAGNONE-SERENO & P. QUÉNÉHERVÉ. 2004. Enzyme phenotypes and genetic diversity of root-knot nematodes parasitising Musa in Brazil. Nematology, 6: 85-95.
- COFCEWICZ, E.T., R.M.D.G. CARNEIRO, O. RANDIG., C. CHABRIER & P. QUÉNÉHERVÉ. 2005. Diversity of Meloidogyne spp. on Musa in Martinique, Guadeloupe and French Guiana. Journal of Nematology, 37: 313-322.
- COSTA, S.B., V.P. CAMPOS & M. MENEZES. 1997. Fungos associados a cistos de Heterodera glycines no Brasil. Nematologia Brasileira, 21: 31-37.
- DACKMAN, C., I. CHET & B. NORDBRING-HERTZ. 1989. Fungal parasitism of the cyst nematode Heterodera schachtii: infection and enzymatic activity. FEMS Microbiology Ecology, 62: 201-208.
- EISENBACK, J.D. 1985. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (Meloidogyne spp.). In: SASSER, J.N. & C.C. CARTER (ed). An Advanced Treatise on Meloidogyne. Vol. 1 - Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p.95-112.
- EISENBACK, J.D. & H.H. TRIANTAPHYLLOU. 1991. Root-knot nematode: Meloidogyne spp. and races. In: Nickle, W.R. (ed) Manual of Agricultural Nematology. Marcel Dekker Inc., New York USA, p. 191-274.
- ESBENSHADE, P.R. & C. TRIANTAPHYLLOU. 1985.

- Use of enzyme phenotypes for identification of Meloidogyne species. Journal of Nematology, 17: 6-20.
- FARGETTE, M. 1987. Use of the esterase phenotype in the taxonomy of the genus Meloidogyne. 2. Esterase phenotypes observed in West African populations and their characterization. Revue de Nématologie, 10: 45-
- FERRAZ, S. & M.A. SANTOS. 1995. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo (RS), 3: 283-314.
- JANATI, A., J.B. BERGÉ, A.C. TRIANTAPHYLLOU & A. DALMASSO. 1982. Nouvelles données sur l'utilisation des isostérases pour l'identification des Meloidogyne. Révue de Nématologie, 5:147-154.
- HIRSCHMANN, H. 1985. The genus Meloidogyne and morphological characters differentiating its species. In: BARKER, K.R., C.C. CARTER & J.N. SASSER (ed). An Advanced Treatise on Meloidogyne. Vol. 2 -Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p.79-93.
- LÓPEZ-LLORCA, L. V., J.J. GORDALLO, J. SALINAS, M.L. MONFORD & M.L. LOPEZ-SERRA. 2002. Use of a light and scanning electron microscopy to examine colonization of barley rhizosphere by the nematophagous fungus Verticillium clamydosporium. Micron, 33: 61-67.
- OLIVARES-BERNABEU, C.M. & L.V. LÓPEZ-LLORCA. 2002. Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. Revista Iberoamericana de Micologia, 19: 104-110.
- OLIVEIRA, D.S., R.D.L. OLIVEIRA & W. GONÇALVES. 2006. Fenótipo S1 de esterase em Meloidogyne incognita

- no Brasil. Fitopatologia Brasileira, 31: 207.
- PAIS, C.S. & I.M.O. ABRANTES. 1989. Esterase and malate dehydrogenase in Portuguese populations of Meloidogyne species. Journal of Nematology, 21: 342-346.
- SAMSON, R.A., H.C. EVANS & J.P. LATGÉ. 1988. Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer-Verlag Editor, The Netherlands, 187 p.
- SIKORA, R.A. & E. FERNANDEZ. 2005. Nematodes parasites of vegetables. In: Luc, M., Sikora, R.A. & Bridge, J. (ed). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford UK, p. 319-392.
- SOUZA, R.M., C.M. DOLINSKI & S.P. HUANG. 1994. Survey of *Meloidogyne* spp. in native cerrado of Distrito Federal, Brazil. Fitopatologia Brasileira, 19 (3): 463-465.
- SUN, M., L. GAO, Y. SHI, B. LI & X. LIU. 2006. Fungi and actinomycetes associated with Meloidogyne spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. Journal of Invertebrate Pathology, 93: 22-28.
- TAYLOR, D.P. & C. NETSCHER. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of Meloidogyne spp. Nematologica 20, 268-269.
- TIGANO-MILANI. M.S., M.R. FARIA, I. MARTINS & R. LECUONA. 1993. Ocorrência natural de Beauveria bassiana (Bals) Vuill., Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorok e Paecilomyces sp. em solos de diferentes regiões do Brasil. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 22 (2): 391-393.
- ZARE, R., W. GAMS & H.C. EVANS. 2001. A revision of Verticillium section Prostacta. V. The genus Pochonia, with notes on Rotiferophthora. Nova Hedwigia, 73: 51-86.