

## **EFEITO DE FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO INORGÂNICO SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL E ESPORULAÇÃO DE ISOLADOS DE *Paecilomyces lilacinus***

Camila Mantovani Tavares<sup>1</sup>, Martin Homechin (*in memoriam*)<sup>2</sup>, Marina Capparelli Cadioli<sup>3</sup>,  
Idenize Pedrina Orsini<sup>3</sup>, Débora Cristina Santiago<sup>2</sup> e Giovani de Oliveira Arieira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, CEP: 86051-990. CP. 6001. Londrina, PR. E-mail: camila.m.tavares@hotmail.com.

<sup>2</sup>Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina. CEP: 86051-990. CP. 6001. Londrina, PR. E-mail: santiago@uel.br.

<sup>3</sup>Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, CEP: 86051-990. CP. 6001. Londrina, PR. E-mail: idenizeorsini@yahoo.com.br, macadioli@hotmail.com, giovaniarieira@yahoo.com.br.

**RESUMO:** O fungo *Paecilomyces lilacinus* é um agente de controle biológico de fitonematoides. Estudos envolvendo seus requisitos nutricionais são importantes uma vez que é essencial para o seu crescimento e desempenho no solo. Assim o objetivo do estudo foi o de avaliar cinco fontes de carbono e quatro de nitrogênio inorgânico no crescimento e esporulação de cinco isolados de *P. lilacinus*. Foram utilizados quatro repetições na avaliação do crescimento e para a esporulação seis repetições. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Verificou-se diferenças entre isolados de *P. lilacinus* quanto à suas exigências nutricionais para crescimento e esporulação, o que pode levá-los a apresentar variabilidade de comportamento seja no estabelecimento e ação como biocontrolador em função do substrato empregado para a ampliação do inóculo. O isolado PAE 18 apresentou maior crescimento com lactose e fosfato de amônio monobásico e o isolado PAE 12 maior esporulação com sacarose e sulfato de amônio e fosfato de amônio monobásico. Todos os isolados avaliados se desenvolveram menos na presença de sulfato de amônio.

**PALAVRAS-CHAVE:** Controle biológico, fungos nematófagos, nutrição.

## **EFFECT OF CARBON AND INORGANIC NITROGEN SOURCES ON MYCELIAL GROWTH AND SPORULATION OF *Paecilomyces lilacinus* ISOLATES**

**ABSTRACT:** The fungus *Paecilomyces lilacinus* is an agent of biological control of nematode parasites of plants which can cause total loss of an agricultural production. Studies involving their nutritional requirements are important since it is essential to their growth and performance in the soil. Therefore the objective of the study was to evaluate five sources of carbon and four of inorganic nitrogen on growth and sporulation of five isolates of *P. lilacinus*. In assessing growth was used four replications and for sporulation six repetitions. The averages were compared by Tukey test at 5% probability. It was concluded that there is difference between strains of *P. lilacinus* about whether the nutritional requirements for growth and sporulation. For growth, the isolated PAE 18 was the only one that showed statistical difference with the best result with the lactose and ammonium phosphate monobasic. The isolated PAE 12 showed better sporulation with sucrose and ammonium sulfate and ammonium phosphate monobasic. All isolates evaluated grew less in the presence of ammonium sulfate with statistical difference between the other sources analyzed.

**KEY WORDS:** Biological control, nematophagous fungus, nutrition.

## INTRODUÇÃO

Embora os fitonematoides não sejam tão conhecidos por produtores rurais e técnicos extensionistas, em comparação a insetos, ácaros, fungos e bactérias, representam um sério problema sanitário para diferentes culturas de importância econômica no Brasil (Ferraz, 2000) e para a agricultura mundial (Ferraz e Santos, 1995). Os prejuízos causados produção variam de suaves, com menos de um por cento de perda, até a destruição total (Tihohod, 2000).

Primeiramente, as medidas de controle de doenças buscavam eliminar ou inativar o patógeno através do uso indiscriminado e contínuo de produtos químicos sem uma análise das consequências, o que levou à seleção de patógenos resistentes, ocorrência de surtos de doenças até então consideradas secundárias, redução de grupos e da população de microrganismos benéficos, além de efeitos prejudiciais ao homem, animais e ambiente devido ao acúmulo de resíduos no solo, água e alimentos (Grigoletti Junior et al., 2000).

Atualmente existe a conscientização pública no sentido de reduzir os riscos e impactos toxicológicos dos pesticidas ao meio ambiente e ao consumidor, e a preocupação pela substituição por produtos menos prejudiciais e empregos de técnicas ecologicamente corretas. Essa conscientização determina a redução do uso de defensivos agrícolas (nematicidas, fungicidas, bactericidas, etc.) e incentiva a busca por métodos alternativos para controle de fitonematoides (Ferraz e Santos, 1995). O controle biológico pelo emprego de fungos nematófagos tem sido considerado um dos métodos alternativos mais promissores (Ferraz e Santos, 1995). Dentre estes fungos, um dos mais promissores é *Paecilomyces lilacinus*, habitante do solo e invasor de cistos e massas de ovos dos nematoides, que tem sido empregado com sucesso no controle das doenças de plantas causados por estes organismos (Carlile e Watkinson, 1997; Cadioli et al., 2009).

Segundo Fioretto e Villacorta (1989) para sua utilização como medida viável no controle é importante conhecer, primeiramente, as condições de desenvolvimento do fungo *P. lilacinus*, bem como suas exigências nutricionais. Para obter-se esse conhecimento uma das formas é determinar as fontes nutricionais, essenciais ao desenvolvimento e esporulação do fungo, em meios quimicamente definidos (Pelczar Junior et al., 1997).

Diversos substratos podem permitir avaliar a capacidade fisiológica de um microrganismo, bem como realçar a variabilidade existente entre indivíduos de uma população e permitem conhecer a amplitude da variabilidade entre isolados e a identificação

correta (Tozze Junior et al., 2006). O seu estado nutricional pode alterar a morfologia dos fungos e auxiliar na caracterização dos isolados (Gompertz et al., 2005).

Independente da composição do meio no qual o fungo se desenvolve, elementos como carbono, nitrogênio e potássio, estão sempre presentes, o que indica serem fundamentais para seu desenvolvimento (Moore-Landecker, 1996). Segundo Pelczar Junior et al. (1997) o carbono forma carboidratos, lipídeos e proteínas, sendo um dos principais elementos para o crescimento microbiano. Do mesmo modo o nitrogênio é necessário, uma vez que é parte essencial dos aminoácidos constituintes das proteínas. Dessa forma, é importante o conhecimento do efeito de diferentes fontes de carbono e nitrogênio inorgânico no desenvolvimento de isolados de *P. lilacinus*, em meio de cultura sólido e quimicamente definido, no sentido de obterem-se melhores condições para o cultivo *in vitro* (crescimento micelial e esporulação) e mesmo *in vivo* em substratos. Também pode favorecer a diferenciação entre isolados apresentado quanto aos seus requisitos nutricionais.

Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar cinco fontes de carbono (amido de milho, glicose, lactose, maltose e sacarose) e quatro de nitrogênio inorgânico (fosfato de amônio monobásico, nitrato de potássio, nitrato de sódio e sulfato de amônio) no crescimento e esporulação de cinco isolados de *Paecilomyces lilacinus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

No estudo foram utilizados cinco isolados de *Paecilomyces lilacinus* obtidos de solos, de área de produção de café, da região Norte do Paraná, nomeados como isolados 12; 13; 18; 21 e 22 pertencentes ao Laboratório de Fitopatologia e Nematologia da Universidade Estadual de Londrina. Estes foram mantidos em tubos de ensaio contendo meio de BDA (batata - dextrose - ágar) sob condições de geladeira.

Alíquotas desses fungos foram transferidas para placas de Petri, contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA) e após incubados por cinco dias (120 horas) em BOD a 25 °C. A partir da margem das colônias jovens foram retirados discos (0,8 cm de Ø) contendo micélio e conídios, e estes transferidos, para o centro das placas de Petri contendo os meios de cultura correspondentes aos tratamentos das diferentes fontes de carbono (amido, lactose, maltose, glicose e sacarose) e nitrogênio orgânico (fosfato de amônio monobásico, nitrato de potássio, nitrato de sódio e sulfato de amônio).

Em cada tratamento, foi avaliado o efeito da fonte de carbono e de nitrogênio inorgânico no crescimento radial e esporulação para todos os isolados de *P. lilacinus*. Estas

fontes foram analisadas em substituição as fontes originais da receita do meio mínimo de Pontecorvo et al. (1953) modificado por Azevedo e Costa (1973).

Os resultados do crescimento micelial e esporulação no meio original com glicose foi comparado com as fontes de carbono: amido de milho, lactose, maltose, sacarose e do nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) foi comparado com: nitrato de potássio, fosfato de amônio monobásico e sulfato de amônio. Portanto, as fontes de carbono e nitrogênio inorgânico foram analisadas separadamente.

Após a repicagem nas placas de cada tratamento procedeu-se a incubação em câmara tipo B.O.D. a  $22,5^\circ\text{C}$  sob fotoperíodo de 12 horas. Segundo Cadioli et al. (2007) nesta temperatura estes isolados apresentaram melhor desenvolvimento.

Para o crescimento foram avaliados quatro repetições por tratamento, todavia para quantificação de conídios houve seis repetições considerando cada placa de Petri uma repetição com apenas um inóculo. Os meios de cultura utilizados foram submetidos a autoclavagem por 20 minutos a  $122^\circ\text{C}$  e o pH ajustado para 6,5.

A mensuração do crescimento micelial das colônias foi realizada com auxílio de régua graduada, com medições diárias, dos diâmetros perpendiculares, previamente demarcados na face externa do fundo de cada placa de Petri. O diâmetro da colônia foi calculado através da média das duas leituras. A avaliação foi interrompida no momento em que um dos tratamentos a colônia do fungo atingiu a borda da placa de Petri. Durante treze dias foi analisado o crescimento a fim de se obter, a taxa média de crescimento (cm/dia) considerando-se como medida inicial os 0,8 cm correspondente ao disco do meio contendo o inóculo inicial do fungo (Couto e Menezes, 2004; Monteiro et al., 2004; Nozaki et al., 2004).

Ao décimo quinto dia da repicagem do *P. lilacinus* para os diferentes meios de cultivo, procedeu-se a avaliação da produção de conídios. Com auxílio de um furador de rolha metálico, retirou-se um disco de 0,8 cm de diâmetro na região central da colônia, ao lado do disco de BDA do inóculo inicial do fungo (Barbosa et al., 2002). Cada disco foi inserido em um tubo de ensaio com 10 mL de uma solução (1 L de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada + 2 gotas de Tween 80) para desagregação dos conídios quando sob agitação em agitador elétrico. A contagem dos conídios foi realizada com auxílio de câmara de Neubauer sob microscópio óptico.

O delineamento estatístico do ensaio foi inteiramente casualizado. Primeiramente realizou-se análise de variância no qual foi necessária a transformação dos dados da esporulação em raiz quadrada. Em seguida empregou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade no programa SISVAR 5.0 (1999-2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando-se a taxa de crescimento micelial, somente o isolado PAE 18 apresentou uma fonte de carbono preferencial. A lactose promoveu o melhor desenvolvimento, com diferença estatística, em comparação a todas as outras fontes analisadas (Tabela 1). Este resultado contradiz Abbott (1926) *apud* Monteiro (1988), que relatam que *Paecilomyces lilacinus* apresentou pouco crescimento na presença de lactose. Porém, de acordo com Barbosa et al. (2002), isto deve estar relacionado com a variabilidade genética de cada isolado. Vários pesquisadores citam esta habilidade diferenciada entre isolados da mesma espécie (Couto e Menezes, 2004). Este fato também pode explicar o porquê de apenas o isolado PAE 18 ter apresentado maior crescimento com essa fonte de carbono.

**Tabela 1-** Taxa de crescimento micelial (cm/dia) dos isolados PAE 12, PAE 13, PAE 18, PAE 21 e PAE 22 de *Paecilomyces lilacinus* nas diferentes fontes de carbono (C) e fontes de nitrogênio inorgânico (N).

Fonte de Carbono	PAE12	PAE13	PAE18	PAE21	PAE22
Amido	0.40 Ab	0.41 BAb	0.28 Bc	0.43 Aba	0.45 Aa
Lactose	0.38 BAba	0.37 CBb	0.33 Ac	0.41 BAa	0.41 Ba
Maltose	0.38 BAb	0.42 Aba	0.26 Bc	0.40 BAba	0.44 BAa
Glicose	0.34 Cc	0.39 CBAba	0.26 Bd	0.38 Bb	0.42 BAa
Sacarose	0.36 CBb	0.37 Cb	0.28 Bc	0.42 Aa	0.42 BAa
Fonte de Nitrogênio Inorgânico	PAE12	PAE13	PAE18	PAE21	PAE22
Fosfato de amônio monobásico	0.33 Ac	0.38 Aba	0.34 Acb	0.40 BAa	0.40 Aa
Nitrato de potássio	0.35 Ac	0.39 Acb	0.29 Bd	0.42 Aba	0.43 Aa
Nitrato de sódio	0.34 Ab	0.39 Aa	0.26 Bc	0.38 Ba	0.42 Aa
Sulfato de amônio	0.10 Bb	0.11 Bba	0.14 Ca	0.11 Cba	0.13 Bba

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum, na linha e coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são comparados dentro da coluna pela letra maiúscula e na linha pela letra minúscula. C= CV (%) = 4,77; N= CV (%) = 6,34.

O fungo *Byssochlamys nivea*, que tem como forma anamorfa *Paecilomyces niveus*, foi encontrado em leite cru integral e em leite pasteurizado (Engel e Teuber, 1991 *apud* Coelho, 2008) evidenciando que possivelmente este gênero é capaz de utilizar a lactose como fonte de carbono para sua sobrevivência. Segundo Barbosa et al. (2002) o isolado JAB

02 de *Verticillium lecanii* também apresentou maior crescimento na presença de lactose em comparação à glicose, sacarose, maltose e amido.

Abbott (1926) *apud* Monteiro (1988) relatou que *P. lilacinus* desenvolveu-se bem em maltose como ocorreu com todos os isolados deste trabalho. Porém, Monteiro (1988) analisando os efeitos de glicose, sacarose, amido e lactose em isolados de *Paecilomyces marquandii* observou que o melhor crescimento foi em glicose e sacarose o que não ocorreu com nenhum isolado deste experimento.

Os outros isolados tiveram diferença significativa somente entre algumas fontes. No caso de PAE 12 o amido possibilitou maior desenvolvimento que a glicose e sacarose, no caso de PAE 13 a maltose levou a um melhor resultado que lactose e sacarose, para o isolado PAE 21 o amido e sacarose possibilitaram maior crescimento micelial que glicose e para o isolado PAE 22 o amido promoveu maior desenvolvimento que lactose. Deve-se ressaltar, ainda, que, independente da fonte de carbono utilizada, o isolado PAE 18 obteve o menor crescimento.

Quanto à fonte de nitrogênio inorgânico, todos os isolados apresentaram menor crescimento com sulfato de amônio. Novamente o isolado PAE 18 foi o único a ter uma fonte, fosfato de amônio monobásico, que resultou no melhor crescimento micelial, com diferença estatística, em relação a todas as outras fontes de nitrogênio inorgânico analisadas.

Os isolados PAE 12, PAE 13 e PAE 22 não apresentaram diferenças significativas entre fosfato de amônio monobásico, nitrato de potássio e nitrato de sódio. Porém, o nitrato de potássio promoveu o melhor crescimento no isolado PAE 21 quando comparado ao nitrato de sódio. No meio com nitrato de potássio e nitrato de sódio o isolado PAE 18 obteve o menor desenvolvimento.

Em relação à esporulação dos isolados (Tabela 2) não foi possível se observar diferenças entre as fontes utilizadas. O isolado PAE 12 foi o único a ter uma fonte, a sacarose, que possibilitou sua melhor esporulação, com diferença estatística, em relação as outras fontes de carbono analisadas. Os outros isolados tiveram diferença significativa apenas entre algumas fontes. No PAE 13 a glicose resultou em melhor produção de conídios que amido, com PAE 18 a maltose possibilitou maior esporulação que glicose, o PAE 21 teve melhor resultado na presença de glicose e sacarose do que com lactose, e PAE 22 esporulou melhor em maltose e sacarose que lactose e amido.

**Tabela 2-** A esporulação dos isolados PAE 12, PAE 13, PAE 18, PAE 21 e PAE 22 de *Paecilomyces lilacinus* (n° de conídios x 10<sup>4</sup>/mL), nas diferentes fontes de carbono (C) e fontes de nitrogênio inorgânico (N) no décimo quinto dia de cultivo.

Fonte de Carbono	PAE12	PAE13	PAE18	PAE21	PAE22
Amido	17.46 Ba	13.15 Ba	16.33 BAa	11.99 BAa	14.48 Ca
Lactose	11.70 CBab	13.90 BAab	14.60 BAab	8.56 Bb	17.49 CBa
Maltose	14.27 CBb	15.96 BAb	19.67 Aab	14.25 BAb	26.04 Aa
Glicose	9.60 Cb	20.98 Aa	10.53 Bb	16.91 Aab	23.63 BAa
Sacarose	25.80 Aa	20.65 BAab	14.24 BAb	16.57 Ab	26.22 Aa
Fonte de Nitrogênio Inorgânico	PAE12	PAE13	PAE18	PAE21	PAE22
Fosfato de amônio monobásico	23.37 Aa	20.02 Aa	9.80 Bb	20.88 Aa	27.39 Aa
Nitrato de potássio	6.69 Bc	20.97 Ab	10.80 BAc	13.19 Bc	28.96 Aa
Nitrato de sódio	9.60 Bc	20.98 Aab	10.53 BAc	16.91 BAbc	25.81 Aa
Sulfato de amônio	18.13 Aa	18.43 Aa	17.53 Aa	13.00 Ba	12.22 Ba

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum, na linha e coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados são comparados dentro da coluna pela letra maiúscula e na linha pela letra minúscula. (C)= CV (%) = 29.13. (N) = CV (%) = 27.26.

Segundo Monteiro (1988), *P. marquandii* não apresentou diferença significativa em relação à produção de esporos entre glicose, sacarose, amido e lactose o que não ocorreu com nenhum isolado deste experimento.

Quando se utilizou fosfato de amônio monobásico, houve uma menor esporulação do isolado PAE 18 e quando se utilizou nitrato de potássio, o isolado PAE 22 apresentou maior esporulação. O isolado PAE 12 novamente foi o único a ter fontes, fosfato de amônio monobásico e sulfato de amônio, que possibilitaram a melhor esporulação, com diferença significativa, em relação às outras fontes de nitrogênio inorgânico analisados. O isolado PAE 22 apresentou menor produção de conídios na presença de sulfato de amônio. O isolado PAE 13 não apresentou diferença estatística entre as fontes, enquanto os outros isolados tiveram diferença significativa somente entre algumas fontes. O PAE 18 obteve melhor produção de conídios em sulfato de amônio em comparação a fosfato de amônio monobásico. O PAE 21 obteve melhor resultado com fosfato de amônio monobásico quando comparado com nitrato de potássio e sulfato de amônio.

Tandon e Chandra (1962) *apud* Couto e Menezes (2004) afirmam que “um bom crescimento micelial está associado a uma boa esporulação” isto foi verificado com o isolado PAE 13 na maltose e glicose, PAE 21 no amido, maltose e sacarose, e PAE 22 na maltose, glicose e sacarose, pois nestas fontes tiveram bom crescimento e esporulação. Entretanto,

Couto e Menezes (2004) relatam que “o crescimento micelial reduzido pode estimular a esporulação naquele substrato” isso pode ter acontecido com o isolado PAE 12 na presença de sulfato de amônio. Porém, Cochrane (1958) *apud* Couto e Menezes (2004) argumentam que “nem sempre há relação direta entre crescimento e produção de esporos e vice-versa” como é o caso dos outros isolados estudados neste experimento.

Penariol (2006) realizou semelhante estudo com o fungo *Bipolaris euphorbiae* sugerindo que o fato dele apresentar um melhor crescimento e esporulação em amido é devido sua maior capacidade para desdobrá-lo produzindo diversas amilases. A maior habilidade na redução de uma fonte de carbono e nitrogênio inorgânico pode ser uma explicação para os resultados observados neste experimento.

## CONCLUSÕES

O isolado PAE 18 de *Paecilomyces lilacinus* apresentou o menor crescimento e foi o único onde se observou o efeito das fontes de carbono e nitrogênio inorgânico em seu desenvolvimento, com exceção do sulfato de amônio, obtendo melhores resultados com fosfato de amônio monobásico e lactose.

O sulfato de amônio não foi viável como fonte de nitrogênio inorgânico para o crescimento dos isolados, necessitando estudos adicionais para verificar se isto ocorreu devido a altas concentrações ou a falta de enzimas específicas para sua redução.

Somente o isolado PAE 12 apresentou diferenças quanto à esporulação, sendo esta superior quando se utilizou como fontes de nitrogênio inorgânico sulfato de amônio e fosfato de amônio monobásico e, como fonte de carbono, a sacarose.

## REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J.L.; COSTA, S.O.P. **Exercícios práticos de genética**. São Paulo: Editora Nacional/Edusp, 1973.

BARBOSA, C.C.; MONTEIRO, A.C.; CORREIA, A.C.B.; PEREIRA, G.T. Crescimento e esporulação de isolados de *Verticillium lecanii* sob diferentes condições nutricionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.6, p.821-829, 2002.

CADIOLI, M.C.; SANTIAGO, D.C.; HOSHINO, A.T.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.2, p.305-311, 2007.



CADIOLI, M.C.; SANTIAGO, D.C.; OLIVEIRA, A.D.; PAES, V.S.; ARIEIRA, G.O.; BAIDA, F.C. Efeito de isolados de *Paecilomyces lilacinus* no desenvolvimento de cafezais e na população de *Meloidogyne paranaensis*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.3, p.713-720, 2009.

CARLILE, M.J.; WATKINSON, S.C. **The fungi**. San Diego: Academic Press Inc., 1997.

COELHO, S.F.L. **Efeito de diferentes concentrações de conservantes alimentícios no crescimento *in vitro* de fungos termorresistentes e bactérias patogênicas**. 2008. 79p. Dissertação (Mestrado em Nutrição)– Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

COELHO, S.F.L. **Efeito de diferentes concentrações de conservantes alimentícios no crescimento *in vitro* de fungos termorresistentes e bactérias patogênicas**. 2008. 79f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

COUTO, E.F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.406-412, 2004.

FERRAZ, S.; SANTOS, M.A. Controle biológico de fitonematoides pelo uso de fungos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.3, p.283-314, 1995.

FERRAZ, L.C.C.B. In: TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

FIORETTO, A.M.C.; VILLACORTA, A. Exigências térmicas para o desenvolvimento do fungo nematógeno *Paecilomyces lilacinus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.24, n.8, p.975-978, 1989.

GOMPERTZ, O.F. et al. Biologia dos fungos. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. cap.64, p.451-459.

GRIGOLETTI JUNIOR, A. et al. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v.30, n.1 e 2, p.155-165, 2000.

MOORE-LANDECKER, E. **Fundamentals of the fungi**. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996.

MONTEIRO, A.C. **Aspectos fisioecológicos de isolados de fungos entomopatogênicos obtidos na região amazônica (Manaus)**. 1988. 233f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos- São Paulo, 1988.

MONTEIRO, A.C.; BARBOSA, C.C.; CORREIA, A.C.B.; PEREIRA, G.T. Crescimento e esporulação de isolados de *Verticillium lecanii* sob diferentes fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.6, p.561-565, 2004.

NOZAKI, M.H.; CAMARGO, M.; BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.429-432, 2004.

PELCZAR JUNIOR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, V.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, v.1, 1997.

PENARIOL, M.C. **Requisitos nutricionais e produção massal de *Bipolaris euphorbiae***. 2006. 49P. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

TOZZE JUNIOR, H.J.; MELLO, M.B.A.; MASSOLA JÚNIOR, N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, v.32, n.1, p.71-79, 2006.

---

Recebido para publicação em: 11/07/2012

Aceito para publicação em: 26/07/2012