CLAUDIO NEY D'ANGIERI FILHO

CONTROLE DE Meloidogyne javanica EM JABORANDI (Pilocarpus microphyllus) COM Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus E Verticillium chlamydosporium

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitossanidade, para obtenção do grau de "Mestre".

Orientador: Vicente Paulo Campos

LAVRAS - MG

CLAUDIO NEY D'ANGIERI FILHO

CONTROLE DE Meloidogyne javanica EM JABORANDI (Pilocarpus microphyllus) COM Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus E Verticillium chlamydosporium

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitossanidade, para obtenção do grau de "Mestre".

Orientador: Vicente Paulo Campos



LAVRAS - MG

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da Biblioteca Central da UFLA

D'Angieri Filho, Cláudio Ney

Controle de Meloidogyne javanica em jaborandi (Pilicarpus microphyllus) com Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium / Cláudio Ney D'Angieri Filho. -- Lavras : UFLA, 1996. 68p. : il.

Orientador: Vicente Paulo Campos. Dissertação (Mestrado) - UFLA. Bibliografia.

1. Jaborandi - Praga. 2. Controle biológico. 3. Fungo nematófago. 4. Meloidoginose I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.97652

CLAUDIO NEY D'ANGIERI FILHO

CONTROLE DE Meloidogyne javanica EM JABORANDI (Pilocarpus microphyllus) COM Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus E Verticillium chlamydosporium

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitossanidade, para obtenção do grau de "Mestre".

Aprovada em 02/10/96

Prof. José da Cruz Machado

Prof. Vicente Paulo Campos

Orientador

A Dona Jacira, que abriu mão de sua própria vida, prá estar sempre pronta a ajudar seus filhos ...

... Com muito amor OFEREÇO

A minha querida mulher Isabel,

que junto a esta conquista está me

trazendo a alegria de ser pai.

E ao meu filho Matheus

.... DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sem Ele nada disso teria acontecido.

Aos meus pais, minhas avós Carolina e Laura, meus irmãos Sílvio e Luciano, Tio Zé e Tia Vânira, aos meus primos Renato e Rodrigo, e demais parentes, por estarem sempre torcendo por mim.

Ao professor Vicente Paulo Campos pela grande ajuda, pelos valiosos ensinamentos e necessários "puxões de orelha".

Ao meu irmão de coração João Flávio, que me trouxe a nematologia.

Ao meu amigão Deoclécio por ter sido muito mais que um chefe.

Aos meus quatro "braços direitos": Jorge, Renato, Alexandre e Edinan, pela imensa ajuda e amizade nos momentos de precisão.

Aos professores Mario Sobral de Abreu e José da Cruz Machado, como membros da banca examinadora, pela ajuda e avaliação deste trabalho.

Aos demais professores do Departamento de Fitossanidade da UFLA pelos ensinamentos transmitidos dentro e fora de sala de aula.

Aos meus amigos contemporâneos do curso de mestrado: Cristian, Hercules, Oswaldo, Wilson, Murilo, Carlos, Regina, Hudson, Valéria, Luís, Zilá, Sônia, José Jorge e, principalmente, Jorginho, pela boa convivência e companherismo.

Ao Cléber e Heloisa, pela "força" nos serviços de laboratório.

A todo pessoal do Departamento de Fitossanidade: Lisiane, Psida, Di Lourdis, Eloisa, Cleber, D. Zélia, Agenor e Carlinhos; pela ajuda.

Aos funcionários da Biblioteca Central da UFLA, pelo auxílio nos trabalhos de revisão bibliográfica.

Aos colegas de república: Turco, Cotonete, Giovani, Adriano e Daniel, pelas "cachaçadas".

Aos amigos que deixo em Lavras, pelo convívio agradável.

Ao pessoal da Fazenda Chapada, que me recebeu com grande carinho.

A Universidade Federal de Lavras, que me acolheu desde a graduação.

A Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPES, pela concessão de bolsa durante a conclusão dos meus créditos, no curso de mestrado.

A MERCK. Indústrias Químicas S.A., pelo e suporte no desenvolvimento deste trabalho.

À Dátilu's pelo esforço e qualidade na realização deste serviço de digitação.

À todos aqueles, que por um momento de esquecimento, deveriam ter sido citados e não foram.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	RESUMO
	ABSTRACT
1	INTRODUÇÃO
2	REVISÃO DE LITERATURA
2.1	Controle biológico através de fungos nematófagos
2.2	Aspectos etiológicos de fungos nematófagos
2.3	Ocorrência de fungos nematófagos em culturas perenes
3	MATERIAL E MÉTODOS
3.1	Obtenção e multiplicação da população do nematóide Meloidogyne javanica
3.2	Produção das mudas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus)
3.3	Procedência dos isolados, multiplicação e produção de inóculo de Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium
3.4	Controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) com os fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium
3.5	Reisolamento dos fungos: Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacimus e Verticillium chlamydosporium
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO
4.1	Controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) pelos fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacimus e Verticillium chlamydosporium em casa de vegetação
4.2	Controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) pelos fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium no campo
4.3	Reisolamento dos fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium
5	CONCLUSÕES
	BIBLIOGRAFIA
	ANEXO

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	População total de <i>Meloidogyne javanica</i> por sistema radicular do jaborandi (<i>Pilocarpus microphyllus</i>), inoculado ou não, com os fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> (AC), <i>Paecilomyces lilacinus</i> (PL) e <i>Verticillium chlamydosporium</i> (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliados aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s)	23
2	Número de galhas por planta de jaborandi (<i>Pilocarpus microphyllus</i>) infestada com <i>M. javanica</i> , inoculadas ou não, com os fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> (AC), <i>Paecilomyces lilacimus</i> (PL) e <i>Verticillium chlamydosporium</i> (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliada aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s)	26
3	Peso fresco da parte aérea de plantas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus) infestadas por M. javanica, inoculadas ou não, com os fungos Arthrobotrys conoides (AC), Paecilomyces lilacimus (PL) e Verticillium chlamydosporium (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).	27
4	Altura de plantas (cm) de jaborandi (<i>Pilocarpus microphyllus</i>), inoculadas ou não, com os fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> (AC), <i>Paecilomyces lilacinus</i> (PL) e <i>Verticillium chlamydosporium</i> (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s)	28
5	População total de <i>Meloidogyne javanica</i> por sistema radicular do jaborandi (<i>Pilocarpus microphyllus</i>), inoculado ou não, com os fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> (AC), <i>Paecilomyces lilacimus</i> (PL) e <i>Verticillium chlamydosporium</i> (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliados aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s)	30

Figura		Página
6	Número de galhas por planta de jaborandi (Pilocarpus microphyllus), inoculada ou não, com os fungos Arthrobotrys conoides (AC), Paecilomyces lilacimus (PL) e Verticillium chlamydosporium (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).	31
7	Peso da parte aérea de plantas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus), inoculadas ou não, com os fungos Arthrobotrys conoides (AC), Paecilomyces lilacinus (PL) e Verticillium chlamydosporium (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).	32
8	Altura das plantas (cm) de jaborandi (<i>Pilocarpus microphyllus</i>), inoculado ou não, com os fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> (AC), <i>Paecilomyces lilacimus</i> (PL) e <i>Verticillium chlamydosporium</i> (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s)	33

RESUMO

D'ANGIERI FILHO, Claúdio Ney Controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) com Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium. Lavras: UFLA, 1996. 68p. (Dissertação Mestrado em Agronomia). 1

Os fungos Arthrobotrys conoides (10⁴ esporos + segmentos de micélio por grama de solo), Paecilomyces lilacimus (10⁶ esporos por grama de solo) e Verticillium chlamydosporium (10⁶ esporos por grama de solo) foram inoculados isoladamente e em combinações, em duas épocas diferentes, em mudas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus) infestadas com 7.500 ovos de Meloidogyne javanica. Plantas inoculadas apenas com o nematóide ou sem nenhuma inoculação foram consideradas testemunhas. Os tratamentos foram repetidos 7 vêzes e os ensaios desenvolvidos em casa de vegetação e em microparcelas instaladas no campo. No experimento de casa de vegetação, os fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacimus e Verticilium chlamydosporium incorporados ao solo separadamente reduziram significativamente a população total de Meloidogyne javanica quando comparados com a testemunha inoculada apenas com o nematóide. Também as incorporações simultaneas de A. conoides e P. lilacimus ou de A. conoides com V. chlamydosporium reduziram significativamente a população de M. javanica. A redução populacional de M. javanica também foi significativamente maior do que a testemunha quando os

¹ Orientador: Prof. Vicente Paulo Campos; Membros da banca: Prof. José da Cruz Machado, Prof. Mário Sobral de Abreu.

três fungos antagonistas foram incorporados simultaneamente. Em média ocorreu uma redução populacional de 25% de *M. javanica* do jaborandi com a incorporação dos antagonistas. Os fungos antagonistas também foram capazes de reduzir significativamente o número de galhas por planta quando incorporados isoladamente e simultaneamente, com excessão apenas do tratamento referente a inoculação simultânea de *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*. O crescimento vegetativo do jaborandi tanto no experimento de casa de vegetação quanto em campo não foi afetado pela incorporação dos fungos em mudas infestadas por *M. javanica*. No experimento de campo também não houve diferença significativa na população de *M. javanica* quando se incorporou os fungos antagonistas tanto isoladamente quando simultaneamente.

SUMMARY

Control of Meloidogyne javanica of Jaborandi (Pilocarpus microphyllus) with Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus and Verticillium chlamydosporium

The fungi Arthrobotrys conoides (10⁷ spores + mycelium fregments per liter of soil). Paecilomyces lilacimus (106 spores per gram of soil) and Verticillium chlamydosporium (106 spores for gram of soil) were inoculated in combination on single, at two time periods, in jaborandi (Pilocarpus microphyllus) seedlings infested with 7.500 Meloidogyne javanica eggs. Plants inoculated with nematode only or without any inoculation were considered control plots. The treatments were repeated 7 times in the greenhouse and field essays. In greenhouse experiment, the fungi Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus and Verticillium chlamydosporium isolated incorporated into soil, reduced significantly the total population of M. javanica when compared to the control inoculated with the nematode only. Simultaneaus inoculations of A. conoides and P. lilacimus or A. conoides with V. chlamydosporium reduced significantly the population of M. javanica. The reduction of M. javanica population was also significantly greater than the control when the three antagonistic fungi were incorporated simultaneouly into the soil. The average reduction of M. javanica population of jaborandi was 25%, when the antagonistic fungi were incorporated into infested soil. The antagonistic fungi reduced also the number of galls per plant when were isolated and separated incorporated into soil with the exception on the

treatment when *P. lilacinus* and *V. chlamydosporium* were simultaneously inoculated. The jaborandi growth was not affected by the fungi inoculations in infested seedlings, either in greenhouse or in field experiment. In field experiment significant difference was not found on the *M. javanica* population of jaborandi infested seedlings with and without antagonistic fungi.

1 INTRODUÇÃO

A incidência de fitonematóides, principalmente os formadores de galhas, gênero *Meloidogyne*, causa grandes prejuízos a agricultura. Sasser (1989), relata em seus estudos que 12,3% da produção agrícola mundial é perdida pelo ataque destes fitopatógenos, que chega a exceder 100 bilhões de dólares.

Essas perdas podem ser expressas de várias formas, tanto pela diminuição da produção, como pela sua depreciação qualitativa, incluindo ainda, gastos adicionais com fertilizantes, limitação no uso do solo, etc.

Diversas medidas de controle apresentam, às vezes, restrições de uso conforme o tipo de exploração e/ou pela imposição de riscos ao operador como no caso dos agrotóxicos, abrindo assim a possibilidade do emprego do controle biológico dentro de um manejo integrado de fitonematóides. Os fungos e a bactéria *Pasteuria* têm sido os inimigos naturais mais estudados ultimamente (Taylor e Sasser, 1978; Stirling e Nami, 1995; Mankau, 1980; Dickson e Mitchell, 1985; Dube, 1990; Dias e Ferraz, 1994; Stirling, 1991; Campos, 1992; Navaretti et al., 1986; Carneiro, 1992; Chen, 1994; Freitas, 1992). Em casa de vegetação tem-se alcançado bons níveis de controle dos nematóides das galhas em diversas culturas (Pandey, 1973; Cayrol, 1983; Rodrigues-Kabana, 1991; Gronvold et al., 1986; Jatala, 1986; Davide, 1988; Stirling, 1991; Naves, 1991; Campos, 1994). O jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf), por constituir matéria prima para produção de pilocarpina empregada na fabricação de colírios para o tratamento de

glaucoma, não pode conter resíduos de pesticidas, daí o grande interesse do controle biológico de *Meloidogyne* spp, patógeno nocivo a esta cultura no Estado do Maranhão (Lordello, Lordello e Donalisio, 1992). Desta forma, objetivou-se neste trabalho:

- 1) Avaliar a eficiência dos fungos: Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacimus e Verticillium chlamydosporium no controle biológico de Meloidogyne javanica (Treub, 1885) Chitwood, 1949 em jaborandi (Pilocarpus microphyllus);
 - 2) Avaliar a necessidade de reinfestação desses fungos após 6 meses;
 - 3) Comparar os resultados em condições de casa de vegetação e de campo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Em nosso território, como em outros países, os nematóides das galhas, têm sido encontrados associados às culturas de grande importância, tornando-se bastante prejudiciais para várias delas, tais como: algodão, fumo, batata, tomate, cenoura, soja, cana-de-açúcar e café (Lordello, 1980). Porém, muitas outras culturas estão sujeitas a incidência deste patógeno, dentre elas, o jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf), planta da família das Rutáceas, de ciclo perene, que vem se mostrando de grande importância para a indústria de cosméticos e medicamentos.

Problemas relacionados ao ataque de nematóides formadores de galhas em plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), foram primeiramente mencionados por Silva (1982), relatando a infestação natural de *Meloidogyne arenaria*. Posteriormente, Lordello et al. (1986), puderam verificar a mortalidade em mais de 90% das 160.000 mudas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) produzidas em sacos plásticos, decorrente da utilização de solo naturalmente infestado pelo nematóide *Meloidogyne incognita* raça 1, caracterizando-o, assim, como um sério patógeno ao cultivo dessa planta.

Silva (1992) menciona ainda, que através de levantamento feito em nove municípios do Estado do Maranhão, pode-se identificar vários gêneros de fitonematóides associados a rizosfera do jaborandi (P. microphyllus), dentre os quais: Meloidogyne, Criconemella, Discocriconemella, Helicotylenchus, Hemicycliophora, Peltamigratus, Trichodorus, Trophurus e Xiphinema.

Por ser o cultivo comercial do jaborandi uma atividade recente, esta cultura fica limitada quanto ao uso de defensivo agrícola, quer pela falta de registro de produto para a cultura, quer pela proibição de seu uso por organismos internacionais como o Food Drog Administration (FDA), pois seu produto, a pilocarpina, é empregado na fabricação de colírios para tratamento de glaucoma. Portanto, neste caso, outras estratégias de controle, tanto de doenças, como de pragas, que não a química, assumem maior importância. A inexistência de variedades resistentes a fitonematóides para esta planta faz do controle biológico uma alternativa viável.

Kerry (1987), menciona que os nematóides fitoparasitas têm uma série de inimigos naturais, como: fungos, bactérias, nematóides predadores, protozoários, acáros, colêmbolas e tardígrados. Dentre todos esses inimigos naturais, as pesquisas com fungos predadores e parasitas de ovos têm correspondido a 76% dos trabalhos publicados (Carneiro, 1992a). O conhecimento de fungos exercendo o controle de nematóides é mencionado desde a metade do século passado, quando em 1852 o ectoparasita *Arthrobotrys oligospora* foi descrito por Frenesius e observado por Woronin quanto a sua capacidade predatória (Barron, 1977). Segundo citação de Machado (1994), Zopf, em 1888, descreveu a ação de hifas adesivas deste fungo como responsáveis pelo aprisionamento do nematóide. Outros aspectos bastante importantes refere-se ao fato de muitos destes fungos serem bastante comuns em solos naturais e conseguirem sobreviver saprofiticamente sobre material orgânico em decomposição (Barron, 1977).

Os fungos utilizados no controle biológico de nematóides, podem ser agrupados em três categorias, segundo as modalidades de parasitismo, ou seja, fungos predadores e endoparasitas de formas ativas e fungos endoparasitas de ovos.

2.1 Controle biológico através de fungos nematófagos

Na França, uma linhagem de *Arthrobotrys irregularis*, comercialmente conhecida como Royal 350, é utilizada para controle de juvenis pré-parasitos de *Meloidogyne* spp. em áreas cultivadas com olerícolas (Cayrol e Frankowski, 1979). Sua utilização, entretanto, foi dificultada pelo tipo de formulação, isto é, em cereal cozido, o que exigia: armazenamento e transporte em condições refrigeradas, além de aplicações de doses elevadas, ou seja, 1,4 toneladas de cereal colonizado por hectare ou 14 x 10⁷ propágulos/m², resultando em utilização apenas em pequenas áreas (Carneiro, 1992a).

Os fungos Arthrobotrys robusta, A. tortor e Monacrosporium salinum demonstraram "in vitro", após 24 horas, capacidade predatória de 100% em juvenis de Anguina agrotis, nematóide que incidi sobre cultivos de champignons, reduzindo consideravelmente sua produção (Cayrol e Combettes, 1983). Contudo, Arthrobotrys oligospora, Arthrobotrys oviformis e Arthrobotrys musiformis, não apresentaram a mesma eficiência, quando testados nas mesmas condições dos ensaios anteriores (Carneiro, 1992a e b). Já o fungo Arthrobotrys conoides conseguiu reduzir significativamente os danos causados pelo nematóide Ditylenchus miceliophagus em cogumelos Agaricus bisporus cultivados em casa de vegetação (Cayrol et al., 1978).

Stirling (1991) cita que Mankau e Bartnick em 1987, observaram a eficiência, "in vitro", da ação predatória de vários fungos do gênero *Arthrobotrys*, que foram encontrados e isolados da rizosfera de plantas cítricas, cultivadas no Estado da Califórnia, associados a populações de *Tylenchulus semipenetrans*.

Al-Hazmi, Schmitt e Sasser (1982a,b), observaram reduções superiores a 84% nos índices de galhas e ovos de *Meloidogyne incognita* pela aplicação do fungo *Arthrobotrys conoides*, cultivado em meio de vermiculita. O número de juvenis de segundo estádio também foi menor nos tratamentos com *A. conoides*, observando 95% de controle, na máxima redução populacional do nematóide *M. incognita*.

Dias e Ferraz (1994) selecionando alguns isolados fúngicos do gênero Arthrobotrys, obtidos de solo brasileiro, observaram redução de até 50% no número de galhas por grama de raiz, em tomateiros parasitados pelo fitonematóide Meloidogyne incognita raça 3. Posteriormente os mesmos autores, avaliaram a capacidade de 5 espécies de Arthrobotrys (A. robusta, A. musiformis, A. conoides, A. irregularis e A. thaumasia), veiculadas de duas maneiras diferentes (suspensão de conídios e em milho triturado colonizado), no controle de Meloidogyne incognita raça 3, em dois plantios consecutivos de tomateiros. Os resultados mostraram que quando se utilizou milho triturado colonizado pelos fungos, houve redução no número de galhas das raízes dos tomateiros nos tratamentos com A. irregularis e A. thaumasia, no primeiro e segundo plantio respectivamente. Para a suspensão de conídios, os tratamentos com A. robusta e A. thaumasia, foram capazes de apresentar redução significativa do número de galhas, no segundo plantio, sugerindo, neste caso, talvez a necessidade de um maior período para colonização do solo, para possibilitar melhoria do controle do nematóide.

Os fungos parasitas de ovos, tem reduzido consideravelmente os danos causados por espécies de *Meloidogyne*, em muitas culturas. A aplicação de 400 quilogramas por hectare de grãos colonizados com o fungo *Paecilomyces lilacimus* foi capaz de mostrar excelentes resultados de controle (Jatala et al, 1981; Godoy, Rodrigues-Kabana e Morgan-Jones, 1983; Noe e Sasser,

1984). Contudo, nem sempre tratamentos com *Paecilomyces lilacinus* corresponderam a significativos aumentos de produção (Dickson e Mitchell, 1985; Jatala, 1985; Novaretti, 1986).

Resultados já obtidos em casa de vegetação por vários autores citados por Campos (1992), demonstraram que *Paecilomyces lilacimus* foi eficaz no controle de diversos nematóides como: *Meloidogyne* sp. em tomate, *Globodera rostochiensis* em batata, *Radopholus similis* em bananeira, *Tylenchulus semipenetrans* em citros, *Rotylenchulus reniformis*, em abacaxi e *Pratylenchulus* sp. em milho. Davide (1988), citado também por Campos (1992), relata que o controle biológico de nematóides através do *Paecilomyces lilacinus* proporcionou aumento da produção de batata, tomate, quiabo e abacaxi, entre 40 a 80%, na província de Benguet, obtendo para o caso específico da batata, através do controle do nematóide dourado, um aumento de até 106% na produção.

P. lilacinus e V. chlamydosporium têm considerável capacidade de parasitar ovos de M. incognita, em condições de laboratório, podendo chegar ao parasitismo de 52,3% e 63,5% dos ovos respectivamente. Já em condições de campo, estes valores foram reduzidos para 14,9% e 12,1%, podendo-se observar que para estas condições, houve diminuição da performance do P. lilacinus e do V. chlamydosporium (Freire e Bridge, 1985). Outros autores, também têm comprovado um melhor desempenho destes fungos em condições de laboratório e casa de vegetação, do que aqueles alcançados em campo (Kerry, Simon e Rovira, 1984; Dackman e Baath, 1989).

Em solos naturalmente infestados por *Meloidogyne arenaria* e posteriormente incorporados com *Gliocladium roseum*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*, cultivados em grãos de aveia autoclavados, pode-se observar uma redução significativa no número

de galhas formadas em raízes de abóbora, evidenciando o potencial de uso desses organismos no controle desse nematóide (Rodriguez-Kabana et al. 1984).

Experimento montado com objetivo de se avaliar a eficiência de 4 isolados fúngicos: Paecilomyces lilacinus, Verticillium chlamydosporium, Gliocladium roseum e Scytalidium sp, no controle do nematóide Meloidogyne javanica, constatou que os tratamentos formados pelos fungos P. lilacinus e V. chlamydosporium, apresentaram melhores resultados (Ribeiro, 1993). Cabanillas e Barker (1986) através de ensaios experimentais, puderam observar a eficiência de vários isolados de P. lilacinus no controle de Melodoigyne incognita em tomateiros, relatando também que a temperatura do solo, a densidade do inóculo e o tempo de aplicação do fungo, influenciaram o nível de controle conseguido.

Paecilomyces lilacinus quando inoculado individualmente ou simultaneamente com Meloidogyne incognita, Rotylenchulus reniformis e/ou Rhizoctonia solani, em plantas de feijão vigna, foi capaz de reduzir significativamente as populações de M. incognita e de R. reniformis, além de atuarem antagonicamente sobre a R. solani (Khan e Hussain, 1988).

Freitas, Ferraz e Muchovej (1995), constataram a eficiência de dezenove isolados de *Paecilomyces lilacimus* na redução do número de galhas de *M. javanica* em tomateiros conduzidos sob condições de casa-de-vegetação. Esta habilidade de parasitismo variou entre os isolados, sendo que os originados da França e Itália apresentaram melhores índices de controle.

Trabalho de Machado (1994) constatou a eficiência dos fungos *P. lilacinus*, *V. chlamydosporium* e *A. conoides*, crescidos em esterco bovino, na redução do número de galhas, massas de ovos e de ovos do nematóide *M. javanica* em tomateiros conduzidos sob condições de casa-de-vegetação.

2.2 Aspectos etiológicos de fungos nematófagos

O gênero *Paecilomyces* tem sido um dos principais grupos fúngicos de interesse no controle biológico de nematóides nos últimos anos (Stirling, 1991). Testes "in vitro" tem mostrado que alguns isolados de *P. lilacimus* são bastante agressivos e patogênicos a ovos de nematóides, (Villanueva e Davide, 1984; Walia, Bansal e Bhatti, 1990; Stirling e West, 1991). A colonização dos ovos por "strains" patogênicos, geralmente, ocorre como resultado da simples penetração da hifa individual, ocasionalmente podendo estar associado com uma estrutura específica de penetração, possivelmente um apressório (Deacon, 1984). Tanto o fungo *Paecilomyces lilacimus* como o *Verticillium chlamydosporium*, podem destruir a quitina e os lipídios que envolvem os ovos dos nematóides, passando a não mais apresentar proteção ao desenvolvimento dos juvenis, e ainda, desordenando-os fisiologicamente, impedindo sua maturação, por conseguinte, destruindo o conteúdo dos ovos.

O fungo *Verticillium chlamydosporium* é mencionado como um importante patógeno de nematóides, com potencial de uso em programa de controle biológico. Esse fungo não é um parasita especializado, atuando como espécie oportunista, com capacidade de competir por muitos substratos no solo, incluindo nematóides. Estudos através de microscopia eletrônica, mostraram que este fungo é capaz de causar uma desintegração da parede envoltória dos ovos, com dissolução da quitina e lipídeos, possivelmente pela ação de exoenzimas (Stirling, 1991). Carneiro (1992a) menciona ainda que esse fungo consegue colonizar a rizosfera, não causando qualquer problema a planta ou ao seu crescimento, conseguindo sobreviver por muitos meses no solo, na ausência de nematóides.

Para os fungos predadores a maior parte das pesquisas, também se concentram no controle de nematóides formadores de galhas ou cistos, para os quais a captura fica restrita apenas ao segundo estádio juvenil (J2) e aos machos, o que pode dificultar a eficiência desses fungos no controle desses nematóides, obrigando o período de aprisionamento ser o mesmo da migração dos juvenis infestantes. Em geral, o período de captura é pequeno, não havendo equilíbrio entre as populações do nematóide e a atividade do fungo. O fungo, em geral, declina enquanto a população do nematóide continua a aumentar (Cooke, 1977).

Mankau (1980) menciona que os fungos predadores têm poucas características relativas a eficiência no controle biológico de nematóides, contudo por ser um grupo muito heterogêneo e por terem apresentado resultados encorajadores, estudos sobre o ambiente, hospedeiro, tratos culturais e manejo de cada espécie vegetal precisam ser realizados (Carneiro, 1992).

Sabe-se que os fungos nematófagos são bastante comum em solos naturais e em todo tipo de material orgânico (Barron, 1977). Este aspecto é bastante importante, pois mantendo-os saprofiticamente na rizosfera, além da própria sobrevivência, podem continuar aumentando seu inóculo, melhorando com isso, suas chances de disseminação e controle dos nematóides (Rodriguez-Kabana, 1991).

Cabanillas e Barker (1989a, b) consideram como fundamental a infestação em altas concentrações destes antagonistas, para se obter eficiência no controle de fitonematóides. Sendo, que se o fungo tiver condições facilitadas para seu estabelecimento e colonização, este poderá ser empregado em dosagens menores, contudo, suficientes para formarem focos primários e romperem a fungistase do solo.

Ensaios realizados por Jatala et al (1981), mostraram que *Paecilomyces lilacimus*, quando inoculados em grãos de cereais ou repicado em meio de cultura (batata-dextrose-agar), colonizou rapidamente o solo e, um simples tratamento foi suficiente para o estabelecimento do fungo, conseguindo-se reduzir as populações do *Meloidogyne incognita* por várias gerações sucessivas, sem necessidade de reaplicações.

Contudo, vários fatores podem influenciar o estabelecimento e eficiência desses fungos: um deles, refere-se a adição de matéria orgânica como base alimentar, possibilitando com isso a superação da fungistase, e consequentemente, aumento do inóculo no solo (Kerry, Simon e Rovira, 1984). Embora observações contrárias também sejam citadas com relação a adição de matéria orgânica, isso provavelmente pelo fato, desse substrato, em determinados casos, favorecer o desenvolvimento de microorganismos antagonistas mais competitivos que os fungos nematófagos (De Leij e Kerry, 1991).

Rodriguez-Kábana e Morgan-Jones (1988) mencionaram que propriedades do solo, sistema de cultivo e plantas hospedeiras, podem apresentar influência direta sobre o estabelecimento e colonização dos fungos nematófagos, interferindo assim, sobre a eficiência destes no controle dos nematóides. Em adição, Carneiro (1992a e b) relatou a existência de mais fatores que podem afetar esses fungos, tais como: os nutrientes, a temperatura, a umidade e o pH do solo, além de serem pouco competitivos. Outro aspecto importante ao estabelecimento fúngico após a introdução no solo é que esse ecossistema é bastante tamponado, onde qualquer alteração para facilitar esse processo, que não seja realizada de forma contínua, são muitas vezes de curta duração (Cooke, 1963).

A maior parte dos estudos de controle biológico, envolvendo fungos predadores de nematóides, não apresentam resultados muito promissores, embora alguns aspectos sejam

negligenciados nesses trabalhos antes das introduções, quais sejam, seleção e caracterização de linhagens mais virulentas, especificidade, competitividade e adaptação as diferentes condições ambientais. Talvez com a melhoria desses fatores, resultados mais expressivos de controle sejam alcançados (Carneiro, 1992b).

2.3 Ocorrência de fungos nematófagos em culturas perenes

Silva e Carneiro (1992) mencionaram a ocorrência natural do parasitismo de *Paecilomyces lilacimus* em ovos de *Meloidogyne*, sp., em amoreiras no Noroeste do Paraná. Ribeiro (1993) isolou de cafezais infestados por *Meloidogyne* spp. de vários municípios do Sul de Minas Gerais, alguns fungos nematófagos, dentre eles: *P. lilacinus*, *V. chlamydosporium*, *Scytalidium* sp. e *Gliocladium* sp., sendo que os dois primeiros foram os mais frequentes.

Em observações de campo realizadas, na Itália, em áreas plantadas com Kiwi (Actinidia deliciosa), pode-se constatar uma correlação inversa entre a ocorrência dos fungos Arthrobotrys dactyloides, A. oligospora, Monacrosporium salinum, M. bembicodes e Verticillium chlamydosporium, e o nível populacional de Meloidogyne hapla. Quando as taxas de parasitismo dos fungos sobre os ovos era alta a população de M. hapla era reduzida. Contudo, mesmo nos meses em que se observava as maiores taxas de parasitismo (17%), o nível de controle do Melodoigyne hapla não era suficientemente reduzido para minimizar os prejuízos econômicos causados a produção de kiwi (Roccuzzo, Ciancio e Bonsignore, 1993).

Campos (1994) trabalhando com Arthrobotrys conoides, A. musiformis, Paecilomyces lilacimus e Verticillium chlamydosporium, veiculados através de suspensão de esporos ou grãos de trigo colonizados, observou que o número de ovos por grama de raiz e de

juvenis de segundo estádio (J2) do nematóide *Meloidogyne exigua* foi reduzido em mais de 50%, em cafeeiros conduzidos em condições de casa de vegetação, quando estes fungos foram inoculados do solo.

Vários estudos foram desenvolvidos para avaliar o controle biológico e químico de Meloidogyne spp., em três espécies de plantas medicinais Paeonia albiflora, Codonopsis lanceolata e Conidium officinale, utilizando-se os fungos: Arthrobotrys spp., Fusarium spp. e Paecilomyces lilacimus, e o nematicida carbofuran. Constatou-se maior redução no número de galhas, ovos e juvenis do nematóide, quando o fungo Paecilomyces lilacimus foi empregado, tanto em ensaios em condições de casa de vegetação quanto em campo (Park et al., 1993).

Em massas de ovos de *Meloidogyne* spp. extraídas de raízes da videira e do kiwizeiro, pode-se constatar que 23 a 87% dos ovos estavam parasitados por fungos antagonistas locais, sendo que *Paecilomyces lilacimus* e *Verticillium chlamydosporium* foram constantemente isolados. Contudo, através de ensaios onde *P. lilacimus* e *V. chlamydosporium* foram controlados pela aplicação conjunta dos fungicidas mancozeb e iprodione, nenhum aumento significativo foi observado no número de juvenis de segundo estádio (J2) de *Meloidogyne* spp., sugerindo que o parasitismo destes fungos teve pequeno impacto sobre este fitonematoide, eliminando apenas o excesso dos nematóides que o sistema radicular não conseguia suportar (Mertens e Stirling, 1993).

Vinte a sessenta por cento dos ovos de *Meloidogyne* spp., são naturalmente parasitados por *Dactylella oviparasitica*, em áreas de cultivo de pêssego na California (Stirling, 1979). Enquanto que para o nematoide *Criconemella xenoplax*, que também contribue para encurtar o período de vida das árvores de pêssego no sudeste dos EUA, pode-se igualmente verificar reduções singificativas deste fitonematóide, devido ao parasitismo do fungo *Hirsutella rhossiliensis* (Jaffee e McInnis, 1991).

Em solos tropicais e sub-tropicais da Austrália, para diversas culturas observou-se um considerável parasitimo dos ovos de *Meloidogyne* spp. por *V. chlamydosporium* e *P. lilacimus* (Stirling e West, 1991).

Campos (1992) menciona que em uma propriedade localizada no município de Lavras, MG, onde havia uma plantação de café, constatou-se alta frequência de fungos nematófagos, sendo que neste local, a disseminação e o nível populacional do nematóide *Meloidogyne exigua*, sempre foram muito baixos, e que nenhum efeito deletério aparente pode ser observado no desenvolvimento deste cafezal causado pelo nematóide.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção e multiplicação da população do nematóide Meloidogyne javanica

O inóculo original de *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, foi obtido de uma população mantida em tomateiros sob condições de casa de vegetação pelo setor de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UFLA. A seguir, extraíram-se os ovos pela técnica de Hussey e Barker (1973), inoculando-os em plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf) crescidas em substrato esterelizado. Após sessenta dias as raízes galhadas de jaborandi foram colhidas e realizada novamente a extração dos ovos pela técnica já citada, obtendo-se o inóculo necessário para a montagem dos ensaios.

3.2 Produção das mudas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus)

A produção das mudas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf) se deu por semeadura direta em sacos plásticos com 6 cm de diâmetro e 12 cm de comprimento, com substrato formado por uma parte de resíduo de fava d'anta para três partes de latossolo vermelho-amarelo (V/V), ambos bem misturados, e anteriormente esterelizados em autoclave, por um período de 2 horas à temperatura de 120°C. As sementes foram todas originadas de uma única planta autofecundada, para diminuir a variabilidade genética.

3.3 Procedência dos isolados, multiplicação e produção de inóculo de Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium

Tanto a espécie de fungo predador de formas ativas de nematóide, Arthrobotrys conoides, como os fungos parasitos de ovos, Paecilomyces lilacimus e Verticillium chlamydosporium, foram obtidos de isolamentos anteriormente realizados, identificados e selecionados por Naves (1991) e Ribeiro (1993) no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UFLA, onde já haviam sido testadas as suas capacidades de predar juvenis e de parasitar ovos de Meloidogyne, respectivamente. Deste modo, empregou-se neste trabalho, os melhores isolados desses fungos, os quais, vinham sendo mantidos em tubos de ensaio e preservados em óleo mineral esterelizado. Assim os isolados de A. conoides e P. lilacimus foram repicados assepticamente, para placas de Petri de 9 cm de diâmetro com meio BDA (Batatadextrose-agar) e V. chlamydosporium para o meio YPSSA, composto de extrato de levedura, K2HPO4, Mg SO47H2O, amido solúvel e agar, como recomendado por Stirling e Mankau (1978) e Dalla Pria (1992). Após a repicagem, as placas foram devidamente vedadas com parafilm, de forma a evitar qualquer risco de contaminação, além de receberem identificações apropriadas. Em seguida foram incubadas por 15 dias à temperatura de 25°C.

A quantificação do inóculo fúngico de *Paecilomyces lilacinus* e de *Verticillium* chlamydosporium, foi feita através de câmara de contagem de Newbauer a partir da contagem de seus esporos suspensos em água esterizada e deionizada, ajustando-se posterioremente o inóculo para 10⁶ esporos por grama de solo.

Devido a baixa esporulação do *Arthrobotrys conoides* optou-se por utilizar suspensão de esporos e segmentos de micélio deste fungo. Culturas de *A. conoides* com 15 dias de

idade foram levadas a câmara de fluxo laminar e com o auxílio de pinça e estilete esterelizados retirou-se apenas o micelio do fungo da superficie do meio. Esse micélio foi posteriormente suspenso em água esterelizada e teve sua concentração ajustada para 10⁴ esporos + segmentos de micélio por grama de solo.

Nos tratamentos com inoculação simultânea de dois fungos antagonistas, empregou-se metade da dosagem anteriormente citada para inoculações individuais de cada um deles. Na inoculação simultânea de 3 fungos optou-se pela utilização de 1/3 da dosagem de cada inóculo quando incorporado ao solo separadamente. A inoculação dos fungos foi realizada com 30 dias de antecedência a infestação do nematóide. Essas inoculações fúngicas foram repetidas após 6 meses nas mesmas concentrações anteriores, para as 7 repetições restantes de cada tratamento onde esses fungos nematófagos já haviam sido utilizados.

3.4 Controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) com os fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium

Dois ensaios foram estabelecidos: um em casa de vegetação e outro no campo, ambos em delineamento inteiramente casualizado, organizado em esquema fatorial simples 7 x 2 + 2 em 9 tratamentos, sendo 3 fungos: A. conoides, P. lilacinus e V. chlamydosporium; inoculados individualmente e em combinações, num total de 7 tratamentos, duas testemunhas; sendo uma inoculada apenas com M. javanica e outra sem inoculação do nematóide e do fungo. Todos os tratamentos tiveram 14 repetições, sendo 7 aleatoriamente colhidas aos 180 dias e, 7 aos 360 dias.

Mudas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) aos 60 dias após a germinação, com o segundo par de folhas formado e de aproximadamente 8 cm de altura, foram plantadas em vasos

plásticos de 5,5 litros de capacidade para o experimento em casa de vegetação e em vasos de barro de 15 litros, para o experimento de campo.

Empregou-se o substrato formado da mistura (v/v) de 3 partes de latossolo vermelho-amarelo de textura arenosa para 1 parte de resíduo de fava d'anta (subproduto do esmagamento das vagens de *Dimorphandra* sp.). O substrato utilizado no ensaio de casa de vegetação foi esterelizado, por 3 vezes consecutivamente em autoclave a uma temperatura de 120° C, durante uma hora por dia.

No campo, os vasos de barro foram enterrados a 60 cm de profundidade, perfilhados a 1,5 m entre si e 2 metros entre linhas, e preenchidos com o mesmo substrato utilizado em casa de vegetação. Contudo, para este ensaio de campo, não se realizou a esterilização do substrato, mantendo o mesmo, o mais próximo de sua condição natural. O solo ao redor desses vasos foi compactado e toda área foi coberta com grama batatais para evitar a disseminação do nematóide e dos fungos. Após 2 semanas do transplantio das mudas, inocularamse os fungos em 5 orificios de 4 cm de profundidade distribuidos de forma circular com 10 ml das respectivas suspensões. Tanto para o ensaio de casa de vegetação como de campo, cada planta foi infestada com sete mil e quinhentos ovos de *Meloidogyne javanica* 30 dias após a inoculação dos fungos, através de 3 orificios feitos a 3 cm da planta.

Aos 6 e 12 meses após as infestações fúngicas, tanto para condições de casa de vegetação como de campo, obtiveram-se 150 ml de solo de cada vaso e, através da técnica de Jenkins (1964), realizou-se a extração dos juvenis de 2º estádio (J2), contando-os logo a seguir, sob microscópio óptico, tomando-se a média de duas repetições por amostra.

Para a determinação do número de galhas, todos os sistemas radiculares foram separados da parte aérea por secção feita na região do coleto. Em seguida, as raízes foram lavadas

em água parada até a remoção de todas as partículas de solo e, os sistemas radiculares de cada planta foram mantidos por 3 minutos sobre papel toalha absorvente. O número de galhas foi estimado com o auxílio de microscópio esteroscópio para cada sistema radicular em individual.

A extração dos ovos foi realizada com solução de hipoclorito de sódio à 2%, conforme Hussey e Barker (1973), utilizando todo o sistema radicular de cada planta. A contagem também foi feita sob microscopia óptica e a média foi obtida apartir de 2 repetições.

A avaliação dos parâmetros vegetativos como altura e peso fresco da parte aérea das plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), foi feita pela determinação de comprimento compreendido entre o colo e última inserção de folhas e por pesagem direta, respectivamente.

O delineamento estatístico empregado neste ensaio obedeceu a uma inteira casualização dos tratamentos, em esquema fatorial simples de 7 x 2 + 2, onde 7 foram as combinações fúngicas, 2 épocas de avaliação e duas testemunhas, uma infestada apenas pelo nematóide e outra sem o nematóide e sem os fungos. As médias de cada tratamento foram originadas de sete repetições e comparadas entre si pelo teste de Duncan, à nível de 5% de probabilidade.

3.5 Reisolamento dos fungos: Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium

Para verificação da permanência dos fungos durante todo o período de realização dos ensaios, tanto para casa de vegetação como no campo, coletaram-se amostras de 200 cm³ do substrato e raízes galhadas dos tratamentos onde os três fungos foram incorporados conjuntamente. A coleta das amostras foi feita com auxílio de um minitrado, após a remoção da

camada superficial de solo de aproximadamente 3 cm, acondicionadas em sacos plásticos sem qualquer uso anterior, vedados com fita adesiva, e identificados individualmente.

Para isolamento do fungo ectoparasita *Arthrobotrys conoides* pesaram-se uma porção de 100 gramas de solo de cada amostra, suspendendo-a em água e completando o volume para 350 ml, permanecendo sob agitação por 10 minutos. Em seguida esta suspensão foi passada em peneiras de 20, 60, 100 e 325 mesh, sendo que os detritos restantes em cada peneira foram lavados com aproximadamente 400 ml de água de torneira e incorporados a suspensão original. O volume total coletado de 2.400 ml, foi distribuído em tubos de centrífuga e centrifugado por 2 minutos a 1740 rpm, sendo que o decantado desta centrifugação era utilizado para inoculação de placas de agar-água (15%), onde, em seguida, era colocado um pedaço do mesmo meio contendo o nematóide de vida livre, *Panagrellus redivirus*. Terminada essas operações as placas eram devidamente identificadas, tinham as bordas vedadas com parafilm e mantidas a 20°C por 30 dias. Decorrido esse período, as placas com os nematóides iscas eram observados sob microscópio estereoscópio para verificação do parasitismo e colonização pelo fungo *A. conoides*.

Para isolamento dos fungos parasitas de ovos, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*, 10 massas de ovos de cada amostra foram retiradas das raízes galhadas e colocadas sobre peneiras de 0,028 mm de abertura imersas em água destilada em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Uma a duas semanas após, as massas de ovos cobertas com micélio fúngico foram transferidas para um tubo com tampa rosqueada, contendo 5 ml de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% e agitadas manualmente por 5 minutos. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, a suspensão obtida foi passada em peneira de 0,028 mm e os ovos retidos foram lavados cinco vezes com água destilada esterilizada. Um mililitro desta suspensão foi espalhado por placa de Petri de 9 cm de diâmetro, previamente esterilizado, contendo meio ágar-água. As placas foram

etiquetadas, vedadas com parafilm e incubadas a 20± 2°C num sistema de 12 horas de luz e 12 horas de escuro até o surgimento das estruturas fúngicas sobre os ovos. Posteriormente, para obtenção de culturas puras dos fungos, em câmara de fluxo laminar, os ovos parasitados presentes nas placas contendo meio ágar-água foram transferidos individualmente com o auxílio de estilete flambado e microscópio estereoscópico, para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) e acrescido de uma gota do antibiótico Quemicetina e 1 gota de cloranfenicol/100 ml do meio. As placas foram etiquetadas, vedadas com parafilm e incubadas sob as mesmas condições acima citadas. As colônias fúngicas purificadas foram mantidas em câmara de incubação nas mesmas condições anteriormente descritas para identificação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) pelos fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium em casa de vegetação

Os fungos Arthrobotrys conoides (AC), Paecilomyces lilacinus (PC) e Verticillium chlamydosporium (VC) incorporados ao solo separadamente reduziram significativamente a população total de Meloidogyne javanica quando comparados com a testemunha inoculada apenas com o nematóide (Figura 1), concordando com os resultados também alcançados por Davide e Zorilla (1985); Felli, Sacchi e Monteiro (1985); Shahzad Ehteshamul-Hage e Ghaffar (1990); Dias (1992); Campos (1994) e Machado (1994), trabalhando com as culturas do quiabeiro, tomateiro, feijoeiro e cafeeiro.

As incorporações simultâneas no solo de Arthrobotrys conoides e Paecilomyces lilacimus, ou de Arthrobotrys conoides e Verticillium chlamydosporium também reduziram significativamente a população de Meloidogyne javanica quando comparadas com a população na testemunha inoculada apenas com o nematóide, concordando com resultados obtidos por Campos (1994) e Machado (1994), trabalhando com estes isolados nas culturas do cafeeiro, feijoeiro e tomateiro. Entretanto, quando se incorporou ao solo, simultaneamente Paecilomyces lilacimus e Verticillium chlamydosporium a população total de Meloidogyne javanica foi semelhante àquelas

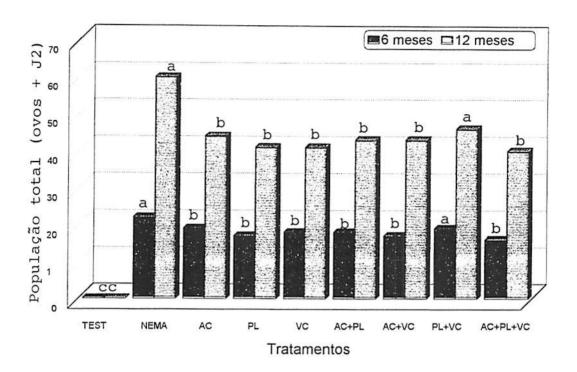


FIGURA 1. População total de *Meloidogyne javanica* por sistema radicular do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculado ou não, com os fungos *Arthrobotrys conoides* (AC), *Paecilomyces lilacinus* (PL) e *Verticillium chlamydosporium* (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliada aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

das parcelas sem os antagonistas (Figura 1), diminuindo assim a eficácia desses fungos no controle do fitonematóide. Talvez a exploração do mesmo nicho ecológico pelos dois fungos tenha afetado o crescimento vegetativo e/ou reprodutivo de ambos, ou até mesmo favorecido a colonização dos dois num mesmo substrato, isto é, no mesmo ovo do nematóide, disseminando-os pouco na população de ovos, impossibilitando o efeito sinergístico na redução populacional do *Meloidogyne javanica*. Resultados semelhantes foram observados por Mertens e Stirling (1993), onde ovos de *Meloidogyne* spp, em raízes de videira e kiwizeiros, foram também parasitados simultaneamente por *Paecilomyces lilacimus* e *Verticillium chlamydosporium*.

Contudo, quando os três antagonistas foram incorporados ao solo simultaneamente, a redução populacional de *Meloidogyne javanica* foi significativamente maior quando comparando a testemunha inoculada apenas com o nematóide e também maior do que nos demais tratamentos (Figura 1), concordando com os valores encontrados por Roccuzzo, Ciancio e Bonsignore (1993), quando observaram o parasitismo simultâneo destes fungos sobre *Meloidogyne hapla* em plantas de kiwizeiro (*Actinidia deliciosa*).

Em média ocorreu uma redução de 25% da população total de *Meloidogyne* javanica do jaborandi com incorporação dos antagonistas. Entretanto, a redução populacional de fitonematóides devido a antagonistas tem sido bastante variável, indo de 0 a 95%, entre os diversos experimentos já conduzidos por vários autores (Dickson e Mitchel, 1985; Al-Hazmi, Schmitt e Sasser, 1982b), indicando a necessidade de maiores estudos ecológicos e da melhoria da eficácia de isolados desses fungos.

Os fungos Arthrobotrys conoides (AC), Paecilomyces lilacimus (PL) e Verticillium chlamydosporium (VC), também foram capazes de reduzir significativamente o número de galhas por planta, tanto na avaliação de 6 como em 12 meses, quando esses três antagonistas foram incorporados ao solo isoladamente e simultaneamente, com excessão apenas do tratamento referente ao inóculo simultâneo de *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* (Figura 2). Esta avaliação do dano causado por *M. javanica* ao jaborandi (*P. microphyllus*), reflete proporcionalmente os efeitos populacionais referentes ao gráfico anterior.

O peso fresco das plantas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus) infestadas com M. javanica e inoculadas ou não com os diferentes fungos antagonistas não diferiram significativamente entre os tratamentos (Figura 3). Resultado semelhante ocorreu quando se mediu a altura, excessão feita apenas ao tratamento onde os três antagonistas foram inoculados simultaneamente (Figura 4). Isso talvez devido a capacidade das raízes em recuperar-se dos danos sofridos pelo ataque de M. javanica, emitindo raízes novas que compensaram a perda pelo ataque do nematóide. Estatisticamente significativo, o único tratamento que se mostrou superior as plantas infestadas apenas com Meloidogyne javanica foi o tratamento onde os três fungos foram incorporados ao solo simultaneamente. Esses resultados concordam com Dias e Ferraz (1994) que também não conseguiram observar aumentos entre as alturas e pesos de tomateiros infestados com M. incognita inoculados ou não com Arthrobotrys, mesmo constatando-se reduções significativas na população total para alguns tratamentos onde esses fungos nematófagos foram empregados. Trabalhos mostram ainda que nem sempre reduções populacionais de fitonematóides ocasionadas pelo parasitismo do fungo Paecilomyces lilacinus correspondem a significativos aumentos de produção (Noe e Sasser, 1984; Dickson e Mitchell, 1985; Jatala, 1985). As parcelas que receberam novamente as mesmas combinações fúngicas seis meses após a primeira, não incrementaram a redução populacional de Meloidogyne javanica, demostrando assim que esta prática foi desnecessária dentro das condições do ensaio. Jatala et al. (1981) em seus ensaios, relatam que uma única infestação desses antagonistas era suficiente, tornando-se desnecessárias

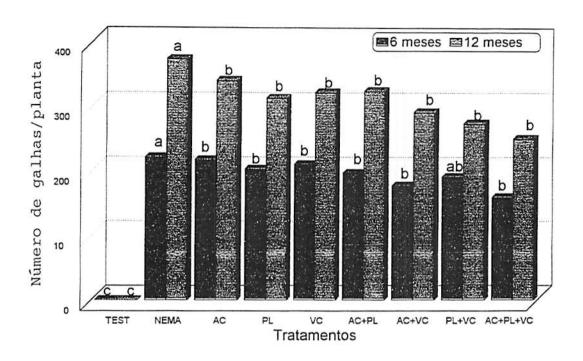


FIGURA 2. Número de galhas por planta de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) infestadas com
M. javanica e inoculada ou não com os fungos Arthrobotrys conoides (AC),
Paecilomyces lilacinus (PL) e Verticillim chlamydosporiuim (VC) isoladamente ou
simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

Letras distintas diferem entre si, pelo Teste de Duncan, ao nível de 5% de
significância. Test = Planta sem qualquer inoculação.

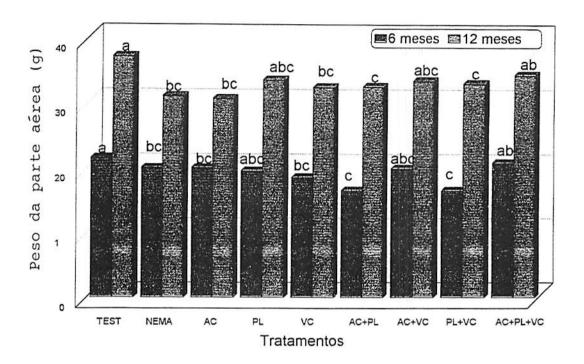


FIGURA 3. Peso fresco da parte aérea (g) de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) infestadas por *M. javanica*, inoculadas ou não com os fungos *Arthrobotrys conoides* (AC), *Paecilomyces lilacimus* (PL) e *Verticillium chlamydosporium* (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

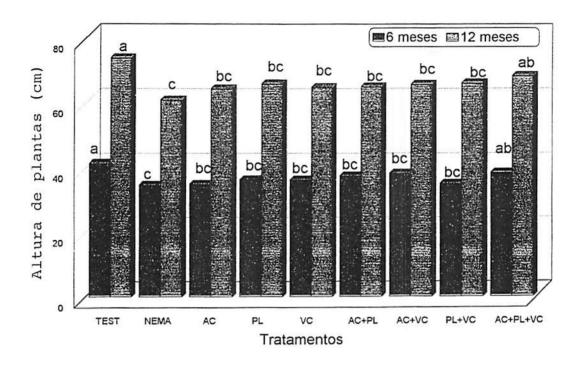


FIGURA 4. Altura de plantas (cm) de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) inoculadas ou não com os fungos *Arthrobotrys conoides* (AC), *Paecilomyces lilacinus* (PL) e *Verticillium chlamydosporium* (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

outras reinfestações. Contudo estudos realizados por Carneiro e Cayrol (1991), com diferentes tipos de solo, esterelizados ou não, demonstraram que a colonização do solo por esses fungos, está relacionada as características físicas, químicas e microbiológicas de cada solo, e que para atingir a mesma eficácia de controle, alguns solos poderiam exigir uma ou mais aplicações fúngicas. Carneiro (1992a), ainda menciona, que poucos experimentos tem sido realizados para avaliar o potencial de instalação desses fungos no solo e consequentemente redução das populações de fitonematóides.

Para os dois períodos de avaliação (seis e doze meses) o peso das plantas referentes aos tratamentos que receberam inoculação do nematóide foram menores do que àquele das plantas-testemunha, sem o nematóide, comprovando o efeito patogênico do nematóide *Meloidogyne javanica* ao jaborandi.

Períodos mais longos para as avaliações populacionais e crescimento das plantas de jaborandi, entre plantas infestadas por *M. javanica* e as plantas inoculadas ou não com fungos antagonistas, poderão fornecer melhores resultados sobre o controle desse fitonematóide e da eficácia desses antagonistas.

4.2 Controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus) pelos fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium no campo

Diferentemente dos dados obtidos em casa-de-vegetação os fungos A. conoides (AC), P. lilacinus (PL) e V. chlamydosporium (VC), quando inoculados isoladamente ou simultaneamente nas plantas infestadas por M. javanica não reduziram significativamente a população total do nematóide, o número de galhas por planta, e nem proporcionaram aumentos

significativos na altura e no peso das plantas, quando comparados a testemunha infestada apenas com o nematóide (Figuras 5, 6, 7 e 8). Talvez devido a altas temperaturas reinantes na região do Maranhão (Tabela 1) tenha prejudicado a capacidade competitiva dos antagonistas com a microflora da região, ou mesmo prejudicado as suas capacidades parasiticas ao nematóide *M. javanica*. Sabe-se que temperaturas do solo superiores a 25°C afetam o crescimento micelial de *P. lilacium* e *V. chlamydosporium* (Stephan e Al-Din, 1987; Kerry, Irving e Hornsey, 1986) e, temperaturas superiores a 34°C reduzem o crescimento micelial de *A. conoides* (Al-Hazmi, Schmitt e Sasser, 1982 b).

Rodrigues-Kabana e Morgan-Jones (1988) e Carneiro (1992a e b), relacionam outros fatores ecológicos e da planta que afetam a eficácia de antagonistas no controle biológico de fitonematóides.

4.3 Reisolamento dos fungos Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium

Todos os fungos nematófagos utilizados neste trabalho, quais sejam: Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacinus e Verticillium chlamydosporium, puderam ser reisolados dos substratos dos vasos plantados com jaborandi (Pilocarpus microphyllus), tanto para o ensaio de casa de vegetação como de campo, evidenciando-se assim, a permanência dos mesmos durante todo o período de realização deste ensaio.

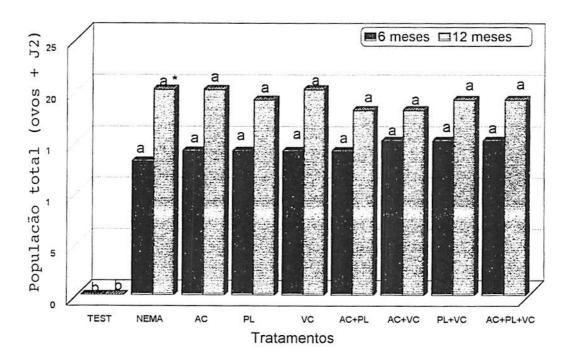


FIGURA 5. População total de *Meloidogyne javanica* caracterizada como somatório do número de ovos e juvenis de segundo estádio por sistema radicular do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculados ou não, com os fungos *Arthrobotrys conoides* (AC), *Paecilomyces lilacinus* (PL) e *Verticillium chlamydosporium* (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliados aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

Letras distintas diferem entre si, pelo Teste de Duncan, ao nível de 5% de significância. Test = Planta sem qualquer inoculação.

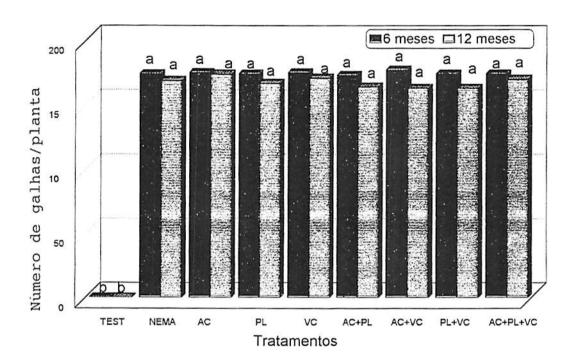


FIGURA 6. Número de galhas por planta de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculada ou não, com os fungos *Arthrobotrys conoides* (AC), *Paecilomyces lilacinus* (PL) e *Verticillium chlamydosporium* (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliada aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

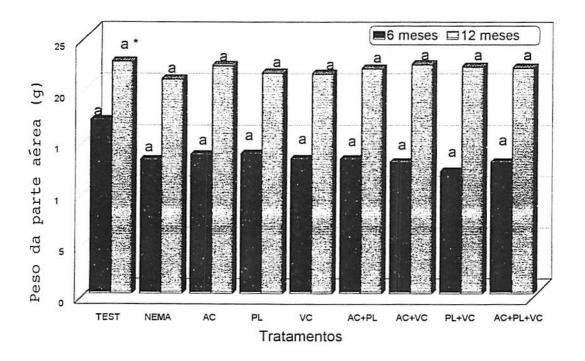


FIGURA 7. Peso da parte aérea (g) de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculadas ou não, com os fungos *Arthrobotrys conoides* (AC), *Paecilomyces lilacinus* (PL) e *Verticillium chlamydosporium* (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

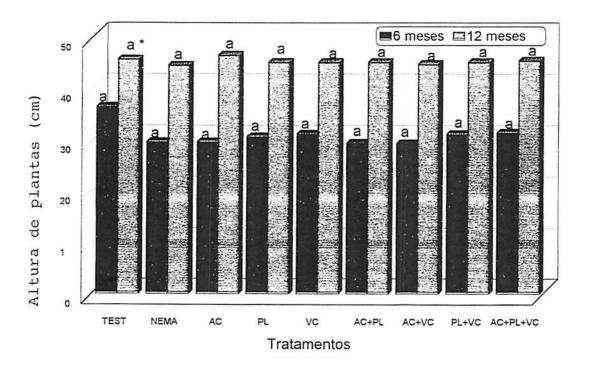


FIGURA 8. Altura das plantas (cm) de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculadas ou não, com os fungos *Arthrobotrys conoides* (AC), *Paecilomyces lilacinus* (PL) e *Verticillium chlamydosporium* (VC), isoladamente ou simultaneamente, avaliadas aos 6 e 12 meses após a inoculação do(s) fungo(s).

5 CONCLUSÕES

- Os fungos: Arthrobotrys conoides, Paecilomyces lilacimus e Verticillium chlamydosporium foram eficazes no controle de Meloidogyne javanica do jaborandi (Pilocarpus microphyllus), em ensaio conduzido em casa-de-vegetação.
- 2. A reinfestação do solo pelos fungos antagonistas não aumentou a eficácia no controle do *Meloidogyne javanica*.
- 3. Os fungos A. conoides, P. lilacinus e V. chlamydosporium não foram eficazes no controle de Meloidogyne javanica do jaborandi em condições de campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-HAZMI, A.S.; SCHMITT, D.P.; SASSER, J.N. The effect of Arthrobotrys conoides on Meloidogyne incognita population densities in corn as influenced by temperature, fungus inoculum density, and time of fungus introduction in the soil. Journal of Nematology, De Leon Springs, v.14, n.2, p.168-174, 1982a.
- AL-HAZMI, A.S.; SCHMITT, D.P.; SASSER, J.N. Population dynamics of *Meloidogyne incognita* on corn grown in soil infested with *Arthrobotrys conoides*. **Journal of Nematology**, De Leon Springs, v.14, n.1, p.44-50, 1982b.
- BARRON, G.L. The nematode-destroying fungi. Ontario: Canadian Biological Publications, 1977. 140p.
- CABANILLAS, E.; BARKER, K. R. The effects of fungal inoculum density and time of application of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* on tomato.

 Journal of Nematology, West Lafayette, v.18, n.4, p.602, Oct. 1986.

- CABANILLAS, E.; BARKER, K.R. Growth of isolates of *Paecilomyces lilacinus* on their efficacy in biocontrol of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Journal of Nematology**, West Lafayette, v.21, n.2, p.164-172, Apr. 1989a.
- CABANILLAS, E.; BARKER, K. R. Impact of *Paecilomyces lilacimus* inoculum level and application time on control of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Journal of Nematology,** West Lafayette, v.21, n.1, p.115-120, Jan. 1989b.
- CAMPOS, H.D. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 em feijoeiro e *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com fungos predadores e parasitas de ovos de fitonematóides.

 Lavras: ESAL, 1994. 67p. (Tese Mestrado em Fitossanidade).
- CAMPOS, V.P. Perspectivas do controle biológico de Fitonematóides. Informe Agropecuário.

 Belo Horizonte, v.16, n.172, p.26-30, 1992.
- CARNEIRO, R.M.D.G. Princípios e tendências do controle biológico de nematoides com fungos nematófagos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 113-121, abr. 1992a.
- CARNEIRO, R.M.D.G. Produção de diferentes linhagens de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16, Lavras, 1992. Resumos... Lavras: ESAL, 1992b. p.29.

- CARNEIRO, R.M.D.G.; CAYROL, J.C. Relationship between inoculum density of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacimus* and control of *Meloidogyne arenaria* on tomato. Revue de Nématologie, Paris, v.14, n.4, p.629-634, 1991.
- CAYROL, J.C. Lutte biologique contre les *Meloidogyne* au moyen d'*Arthrobotrys irregularis*.

 Revue de Nématologie, Paris, v.6, n.2, p.265-273, 1983.
- CAYROL, J.C.; COMBETTES, S. Study of the agressiveness of some nematophagous fungi towards *Anguina agrostis*. Revue de Nématologie, Paris, v.6, p.153-154, 1983.
- CAYROL, J.C.; FRANKOWISKI, J.P. Une méthode de lutte biologique contre les nematodes à galle des racines appartenant au genre *Meloidogyne*. Revue Horticole, Paris, v.193, p.14-23, jan. 1979.
- CAYROL, J.C.; FRANKOWISKI, J.P.; LANIECE, A.; D'HARDEMARE, G. e TALON, J.P. Contre les nematodes en champignonnière. Mise au point d'une methode de lutte biologique a l'aide d'um hyphomycète prédateur: *Arthrobotrys robusta* souche "Antipolis" (Royal 300).

 Revue Horticole, Paris, v.184, p.23-30, fév. 1978.
- CHEN, S.; DICKSON, D.W.; WHITTY, E.B. Response of *Meloidogyne* spp. to *Pasteuria* penetrans, fungi and cutural practices in tobacco. **Journal of Nematology**, De Leon Springs, v.26, n.4, p.620-625, 1994.

- CHITWOOD, B.G. Root-knot nematode. A Revision of genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887.

 Proceedings the Helmithological Society of Washington, Washington, v.16, n.2, p.90-104,

 July 1949.
- COOKE, R.C. The biology of simbiotic fungi. London: John Wiley and Sons, 1977. 282p.
- COOKE, R.C. Ecological characteristics of nematode-trapping hyphomycetes. Annals of Applied Biology, New York, v.52, p.431-437, 1963.
- DACKMAN, C.; BAATH, E. Effect of temperature and time on growth of Verticillium chlamydosporium and V. suchlasporium and infection of Heterodera avenae eggs.

 Mycologia, New York, v.81, p.161-163, 1989.
- DALLA PRIA, M. Controle biologico de *Meloidogyne incognita*, raça 3, pelos fungos Verticillium chlamydosporium e espécies de *Monacrosporium* isolados ou combinados. Viçosa: UFV, 1992. 101p. (Tese - Mestrado em Fitopatologia).
- DAVIDE, R.G. Nematodes problems affecting agriculture in the Philippines. Journal of Nematology, Lawrence, v.20, n.2, p.214-218, Apr. 1988.
- DAVIDE, R.G.; ZORILLA, R.A. Evaluation of fungos *Paecilomyces lilacinus* for the biological control of root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* on okra as compared with nematicide Isazofós. **Philippine Agriculturist**, Laguna, v.68, p.493-500, Oct./Dec. 1985.

- DEACON, J.W. Introduction to modern mycology. 2.ed. Oxford: J.F. Wilkinson, 1984. 239p.
- DE LEIJ, F.A.A.M.; KERRY, B.R. The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* as a potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. Revue de Nematologie, Paris, v.14, n.1, p.151-156, 1991.
- DIAS, W.P. Controle de *Meloidogyne incognita*, raça 3, com *Arthrobotrys* spp. Viçosa: UFV, 1992. 71p. (Tese Mestrado em Fitopatologia).
- DIAS, W.P.; FERRAZ, S. Avaliação de espécies de Arthrobotrys para o controle de Meloidogyne incognita. Fitopatologia Brasília, v.19, n.2, p.189-193, jun. 1994.
- DICKSON, D.W.; MITCHELL, D.L. Evaluation of *Paecilomyces lilacimus* as biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobaco. **Journal of Nematology**, Ames, v.17, n.4, p.519, 1985. (Abst.).
- DUBE, B.N. An integrated biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Paecilomyces lilacinus*,

 Pasteuria penetrans and organic amendment (cattle manure). In: INTERNATIONAL

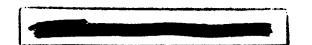
 NEMATOLOGY CONGRESS, 2, Veldhoven, 1990. **Program and abstracts...**Wageningen, Department of Nematology, 1990. p.72.

- FELLI, L.F.S.; SACHI, E.C.; MONTEIRO, A.R. Efeitos de *Paecilomyces lilacimus*, carbamatos e matéria orgânica no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.9, p.34, 1985. (Resumo, 36).
- FREIRE, F.E.O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne* incognita by Paecilomyces lilacinus and Verticillium chlamydosporium. Fitopatologia Brasileira, Brasilia, v.10, p.577-596, 1985.
- FREITAS, L.G. Controle biológico de Meloidogyne javanica pelos fungos Paecilomyces lilacinus e Cylindrocarpon destructans. Viçosa: UFV, 1992. 57p. (Tese Mestrado em Fitopatologia).
- FREITAS, L.G.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J.J. Effectiveness of different isolates of Paecilomyces lilacimus and an isolate of Cylindrocarpon destructans on the control of Meloidogyne javanica. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, 27, Rio Quente, 1995. Resumos... Brasilia: CENARGEN, 1995. p.68.
- GODOY, G.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; MORGAN-JONES. G. Fungal parasites of Meloidogyne arenaria eggs in Alabama soil. A mycological survey and greenhouse studies. Nematropica, Florida, v. 13, n.2, p.201-213, 1983.

- GOMES, C.B.; CARNEIRO, R.M.D.G. Receptivity of three formulations of *Paecilomyces lilacimus* on colonization of eight soils. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, 27, Rio Quente, 1995. Resumos ... Brasília: CENARGEN, 1995. p.68.
- GRONVOLD, J.; KORSHOLD, H.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S.A. Laboratory experiments to evaluate the ability of *Arthrobotrys oligospora* to destroy infective larvae of *Cooperia* species, and to investigate the effect of physical factors on the growth of fungus. **Journal of Helminthology**, London, v.59, n.2, p.119-125, 1986.
- HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.57, n.12, p.1025-1028, 1973.
- JAFFEE, B.A.; McINNIS, T.M. Sampling strategies for detection of density-dependent parasitism of soil-born nematodes by nematophagous fungi. Revue de Nématologie, Paris, v.14, n.4, p.147-150, 1991.
- JATALA, P.; Biological control of nematodes. In: SASSER, J.N.; CARTER, C.C. (eds.). An advanced treatise on Meloidogyne. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. v.1, p.303-308.

- JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v.24, p.453-489, 1986.
- JATALA, P.; SALAS, R.; KALTENBACH, R.; BOCANGEL, M. Multiple application and long-term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field conditions. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.13, n.4, p.445, Oct. 1981.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil.

 Plant Disease Reporter, Washington, v.48, n.9, p.692, 1964.
- KERRY, B.R.; IRVING, F.; HORNSEY, J.C. Variation between strains of the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard. In. Factors affecting growth in vitro. Nematologica, Leiden, v.32, p.461-473, 1986.
- KERRY, B.R.; SIMON, A.; ROVIRA, A.D. Observations on the introduction of *Verticillium* chlamydosporium and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*. Annals Applied Biology, London, v.105, n.3, p.509-516, Dec. 1984.
- KHAN, T.A.; HUSAIN, S.I. Studies on the efficacy of *Paecilomyces lilacimus* as biocontrol agent against a disease complex caused by the interaction of *Rotylenchulus reniformis*, *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani* on cowpea. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v.16, n.2, p.229-231, 1988.



- LORDELLO, L.G.E. Nematóide das plantas cultivadas. 8. ed. São Paulo: Nobel, 1980. 314p.
- LORDELLO, R.A.; LORDELLO, A.I.L.; DONALISIO, M.G.R. Nematóides das galhas dificultam a produção de mudas de jaborandi. Bragantia, Campinas, v.45, n.1, p.195-197, 1986.
- MACHADO, V.O.F. Avaliação de substratos para produção massal de fungos antagonistas a *Meloidogyne javanica*. Lavras: ESAL, 1994. 80p. (Tese Mestrado em Fitossanidade).
- MANKAU, R. Biocontrol: fungi as nematode control agent. Journal of Nematology, West Lafayette, v.12, n. 4, p. 253-259, Oct. 1980.
- MERTENS, M.C.A.; STIRLING, G.R. Parasitism of *Meloidogyne* spp. on grape and kiwi fruit by the fungal egg parasites *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*.

 Nematologica, Leiden, v.39, n.3, p.400-410, 1993.
- NAVES, R. de L. Fungos predadores de nematóides no sul e Minas Gerais: ocorrência e potencial para o controle biológico. Lavras: ESAL, 1991. 67p. (Tese Mestrado em Fitossanidade).
- NOE, J.P.; SASSER, J.N. Efficacy of *Paecilomyces lilacimus* in reducing yield losses due to *Meloidogyne incognita*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEMATOLOGY, 1, Guelph, 1984. Resumos... Ontário, 1984. p.61.

- NOVARETTI, W.R.T. Controle biológico de nematóides fitopatogênicos. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1, Piracicaba, 1986.

 Anais... Campinas: Fundação Cargil, 1986. p.24-38.
- NOVARETTI, W.R.T.; DINARDO, L.L.; TOTINO, L.C.; STARBELLI, J. Efeito da aplicação conjunta do fungo *Paecilonyces lilacinus* e o nematicida Furadan 5G no controle de nematóides em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.10, p.133-144, 1986.
- PANDEY, V.S. Predatory activity of nematode-trapping fungi against the larvae of Trichostrongylus axei and Ostergia ostertagi: a possible method of biological control.

 Journal of Helminthology, London, v.47, p.35-48, 1973.
- PARK, S.D.; CHOO, Y.D.; JUNG, K.C.; SIM, Y.G.; CHOI, Y.E. Field application of egg and larval parasitic fungi and chemicals for controlling root-knot nematodes on some medical herbs. **Korean Journal of Applied Entomology**, v.32, n.1, p.105-114, 1993.
- RIBEIRO, R.C.F. Ocorrência de fungos parasitas de ovos de *Meloidogyne* spp. no sul de Minas Gerais e potencial para o controle de M. javanica. Lavras: ESAL, 1993. 76p. (Tese Mestrado em Fitossanidade).
- ROCCUZZO, G.; CIANCIO, A.; BONSIGNORE, R. Population density and soil antagonists of Meloidogyne hapla infecting kiwi in southern Italy. Fundamental and Applied Nematology, v.16, n.2, p.151-154, 1993.

- RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Control biologico de nematodos parasitos de planta.

 Nematropica, Flórida, v.21, p.11-32, 1991.
- RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G. Potential for nematode control by mycofloras endemic in the tropics. **Journal of Nematology**, West Lafayette, v.20, n.2, p.191-203, Apr. 1988.
- RODRIGUEZ-KABANA, R.; MORGAN-JONES, G.; GODOY, G.; GINTIS, B.O. Efectiveness of species of Gliocladium, Paecilomyces and Verticillium for control of Meloidogyne arenarie in field soil. Nematropica, Flórida, v.14, p.155-170, 1984.
- SASSER, J.N. Plant parasitic nematodes: the Farmers's Hidden Enemy. Raleigh: University Graphics, 1989. 115p.
- SHAHZAD, S.; EHTESHAMUL-HAGE, S.; GHAFFAR, A. Efficacy of *Pasteuria penetrans* and *Paecilomyces lilacimus* in the biological control of *Meloidogyne javanica* on mung bean.

 International Nematological Network Newsletters, Raleigh, v.7, n.3, p.34-35, Sept. 1990.
- SILVA, G.S. *Meloidogynose* do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Starf.). **Fitopatologia**Brasileira, Brasília, v.7, n.1, p.121-123, 1982.

- SILVA, G.S. Nematóides fitoparasitos associados ao jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16, Lavras, 1992. Resumos... Lavras: ESAL, 1992. p.47.
- SILVA, J.F.V.; CARNEIRO, R.G. Ocorrência de *Paecilomyces lilacimus* parasitando ovos de *Meloidogyne* sp. em amora no Noroeste do Paraná. In: CONGRESSO BRAISLEIRO DE NEMATOLOGIA, 16, Lavras, 1992. **Resumos...** Lavras: ESAL, 1992. p.30.
- STEPHAN, Z.A.; AL-DIN, S.S. Influence of temperature and culture media on the growth of the fungus *Paecilomyces lilacinus*. Revue de Nematologie, Paris, v.10, n.4, p.494, 1987.
- STIRLING, G.R. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. Brisbane: CAB International, 1991. 282p.
- STIRLING, G.R. Effect of temperature on parasitism of *Meloidogyne incognita* eggs by Dactylella oviparasitica. Nematologica, Leiden, v.25, p.104-110, 1979.
- STIRLING, G.R.; MANKAU, R. Parasitism of *Meloidogyne* eggs by a new fungal parasite.

 Journal of Nematology, De Leon Springs, v.10,p.236-240, 1978.
- STIRLING, G.R.; NANI, A. The activity of nematode-trapping fungi following their encapsulation in aginate. Nematologia, Leiden, v.41, n.2, p.240-250, 1995.

- STIRLING, G.R.; WEST, L.M. Fungal parasites of root-knot nematode eggs from tropical and sub-tropical regions of Australia. Australian Plant Pathology, Sidney, v.20, p.39-44, 1991.
- TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. Biology, indentification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). North Caroline: International *Meloidogyne* Project, 1978. 111p.
- VILLANUEVA, L.M.; DAVIDE, R.G. Evaluation of several isolates of soil fungi for biological control of root-knot nematodes. **The Philippine Agriculturist**, Laguna, v.67, p.361-371, 1984.
- WALIA, R.K.; BANSAL, R.K.; BHATTI, D.S. Impact of *Paecilomyces lilacimus* application time and method in controlling *Meloidogyne javanica* on okra. In: INTERNATIONAL NEMATOLOGY CONGRESS, 2, Veldhoven, 1990. **Program and abstracts...**Wageningen: Department of Nematology, 1990. p.150.

TABELA 1. Dados bioclimatológicos referentes ao período e local de instalação do ensaio de campo.

Mês/Ano	Temperatura		U.R.	E.C.A.	Precipitação	
	Minima	Máxima	Média	(%)	(mm)	Total (mm)
Mai/94	21,29	32,99	27,14	78,81	4,21	125,60
Jun/94	20,15	33,02	26,59	72,67	5,06	111,00
Jul/94	18,85	32,55	25,70	64,08	4,90	26,40
Ago/94	18,17	34,65	26,41	65,87	5,62	1,80
Set/94	19,61	35,41	27,51	60,17	7,18	34,02
Out/94	21,71	34,35	28,03	66,58	5,87	51,20
Nov/94	21,98	34,86	28,42	65,53	5,63	41,60
Dez/94	21,55	33,85	27,70	71,87	4,82	53,40
Média/94	20,78	33,71	26,69	72,51	5,16	121,49
Total/94						1457,82
Jan/95		32,84		82,40	4,84	105,40
Fev/95		34,32		81,41	4,80	343,20
Mar/95		32,55		84,11	4,89	241,40
Abr/95		31,82		78,71	4,47	313,80
Mai/95	21,87	31,53	26,70	80,90	3,56	231,80

QUADRO 1A. Análise de variância para as características: altura de plantas (ALTURA) e peso de parte aérea (P.P.A.) do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), e número de ovos (N.O.), número de galhas (N.G.), galhas por grama (G.G.) e ovos por grama (O.G.) de raízes infestadas por *Meloidogyne javanica* em casa-de-vegetação com 9 tratamentos e duas épocas de inoculação fúngica. Os dados foram transformados em Log (x+1). UFLA, Lavras, 1996.

F.V.	G.L		Quadrado Médio					
		Altura	P.P.A.	N.G.	G.G.	O.G.	N.O.	
Trat.	8	0.0401**	0.055**	46.7885**	14.4620**	87.8199**	155.9131**	
Tempo (T)	1	10.4326**	8.7466**	5.8279**	0.9593**	2.3454**	24.8134**	
Trat*T	8	0.0035NS	0.0301NS	0.0946NS	0.0773NS	0.2649NS	0.4577**	
Resíduo	108	0.0126	0.0172	0.0757	0.1254	0.2148	0.1340	
Total	125	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·					 	

NS - Não significativo.

^{**} Significativo a 1%

QUADRO 2A. Análise de variância para as características: altura de plantas (ALTURA), peso de parte aérea (P.P.A.) do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), e número de ovos (N.O.), número de galhas (N.G.), galhas por grama (G.G.) e ovos por grama (O.G.) de raízes colonizadas por nematóides *Meloidogyne javanica* em condições de campo, com 9 tratamentos e duas épocas de inoculação fúngica. Os dados foram transformados em Log (x+1). UFLA, Lavras, 1996.

F.V.	G.L	Quadrado Médio					
		Altura	P.P.A.	N.G.	G.G.	O.G.	N.O.
Trat.	8	0.0195NS	0.0368NS	40.1925**	12.5637**	80.0288**	139.7288**
Tempo (T)	1	4.4226**	7.3138**	0.0458NS	5.4686**	3.8917**	0.4812NS
Trat*T	8	0.1586NS	0.0271NS	0.0029NS	0.1043NS	0.1177NS	0.0511NS
Resíduo	108	0.0225	0.0511	0.1302	0.2598	0.3089	0.1532
Total	125		 ·				

NS - Não significativo

^{**} Significativo a 1%.

QUADRO 3A. Análise de variância para população total do nematóide *Meloidogyne javanica* em raízes do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculadas com fungos antagonistas, individual ou combinadamente, e em duas épocas, sob condições de casa-de-vegetação e campo. UFLA, Lavras, 1996.

F.V.	G.L.	Quadrado Médio		
		Casa-de-vegetação	Campo	
Tempo	1	22.5184**	2.3501	
Tratamentos	7	0.1639*	0.0035NS	
Trat.*Tempo	7	0.0109NS	0.0158NS	
Resíduo	96	0.0755	0.0723	
Total	111			

NS - Não significativo

^{**, * -} Significativo ao nível de 1% e 5%, respectivamente.

QUADRO 4A. Teste de média para altura de plantas (ALTURA), peso de parte aérea (P.P.A.) de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), número de galhas (N.G.), número de ovos (N.O.), galhas por grama (G.G.) e ovos por grama (O.G.) em raízes infestadas por *Meloidogyne javanica*, em duas épocas de inoculação dos fungos antagonistas (6 a 12 meses), sob condições de casa de vegetação. UFLA, Lavras, 1996.

Tempo	Altura (cm)	P.P.A.(g)	N.G.	G.G.	O.G.	N.O.
6 meses	36.61 b	19.11 b	160.15 a	15.03 a	687.40 b	4678 b
12 meses	65.87 a	33.06 a	103.81 b	12.46 b	903.37 a	11364 a
	1					

Médias seguidas pela mesma letra verticalmente não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

QUADRO 5A. Teste de média para altura de plantas (ALTURA), peso de parte aérea (P.P.A.) do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), número de galhas (N.G.), número de ovos (N.O.), galhas por grama (G.G.) e ovos por grama (O.G.) de raízes infestadas por *Meloidogyne javanica*, em duas épocas de inoculação (6 a 12 meses) com fungos antagonistas, em condições de campo. UFLA, Lavras, 1996.

Tempo	Altura (cm)	P.P.A.(g)	N.G.	G.G.	O.G.	N.O.
6 meses	30.54 b	12.95 b	89 a	14.36 a	697.42 a	4274 b
12 meses	44.88 a	21.58 a	82 a	9.13 b	490.43 b	4837 a

QUADRO 6A. Teste de média para altura de plantas (cm) de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, e infestadas por *Meloidogyne javanica*, sob condição de casa-de-vegetação. UFLA, Lavras, 1996.

Altura de Plantas (cm)
55.19 a
51.13 ab
49.92 bc
49.15 bc
48.74 bc
48.31 bc
47.86 bc
46.94 bc
45.66 c

QUADRO 7A. Teste de média para população total do nematóide *Meloidogyne* javanica em raízes de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, em casa-de-vegetação. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de nematóides
PLANTA+NEMATÓIDE ¹	36.48 a
PL+VC	29.794 ab
AC	28.582 b
AC+PL	27.682 b
AC+VC	27.320 b
VC	27.037 b
PL	26.440 b
AC+PL+VC	25.645 b

^{1 -} Ausência de fungos.

QUADRO 8A. Teste de média para número de galhas em raízes de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, e inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condição de casa-devegetação. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de Galhas
PLANTA+NEMATÓIDE	278 a
AC	258 a
VC	251 a
AC+PL	246 a
PL	242 a
AC+VC	221 a
PL+VC	220 a
AC+PL+VC	195 a
PLANTA	0 a

QUADRO 9A. Teste de média para número de ovos por raíz de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condições de casa-de-vegetação. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de ovos
PLANTA+NEMATÓIDE	27852 a
PL+VC	24276 ab
AC	22750 ab
AC+VC	21730 ab
AC+PL+VC	21379 ab
VC	21212 ab
PL	20531 ab
AC+PL	18906 b
PLANTA	0 с

QUADRO 10A. Teste de média para número de galhas por grama de raíz de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condição de campo. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de Galhas / g
AC+VC	22.91 a
PL+VC	22.64 a
AC+PL+VC	20.59 a
AC	19.92 a
PLANTA+NEMATÓIDE	19.56 a
AC+PL	19.27 a
PL	18.77 a
VC	14.10 b
PLANTA	0 с

QUADRO 11A. Teste de média para população total de nematóides *Meloidogyne javanica* em raízes de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, em condição de campo. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de Nematóides
AC+PL+VC	16.899
PL+VC	16.844
AC	16.638
VC	16.451
AC+VC	16.414
PLANTA+NEMATÓIDE ¹	16.328
PL	16.319
AC+PL	16.184

^{1 -} Ausência de fungos.

QUADRO 12A. Teste de média para peso de parte aérea (g) de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com fungos antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob casa-de-vegetação. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Peso da Parte Aérea (g)
PLANTA	28.24 a
AC+PL+VC	26.83 ab
AC+VC	25.73 abc
PL	25.58 abc
PLANTA+NEMATÓIDE	24.98 bc
AC	24.74 bc
vc	24.35 bc
AC+PL	23.24 c
PL+VC	23.22 c

QUADRO 13A. Teste de média para número de ovos por grama de raíz de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob casa-de-vegetação. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de Ovos / g
PLANTA+ NEMATÓIDE	2266.35 a
PL+VC	2141.18 a
AC+VC	1840.24 a
AC	1746.24 a
AC+PL	1738.73 a
VC	1733.90 a
PL	1630.28 a
AC+PL+VC	1539.72 a
PLANTA	0 Ь

QUADRO 14A. Teste de média para número de galhas em raízes de plantas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus), infestadas por Meloidogyne javanica, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condição de campo. UFLA, Lavras, 1996.

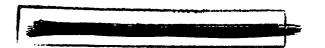
Tratamento	Número de Galhas
AC	164.46 a
AC+PL+VC	162.89 a
VC	162.51 a
PLANTA+NEMA	161.62 a
AC+VC	159.13 a
PL	158.64 a
PL+VC	158.36 a
AC+PL	154.41 a
PLANTA	0.00 b

QUADRO 15A. Teste de média para número de ovos em raízes de plantas de jaborandi (Pilocarpus microphyllus), infestadas por Meloidogyne javanica, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condição de campo. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de Ovos
AC+PL+VC	14.157 a
AC	13.564 a
PL+VC	13.523 a
VC	13.470 a
PLANTA+NEMATÓIDE	13.010 a
PL	12.961 a
AC+PL	12.779 a
AC+VC	11.047 a
PLANTA	0 в

QUADRO 16A. Teste de média para número de galhas por gramas de raíz de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condição de campo. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de Galhas / g
AC+VC	17.13 a
PL+VC	16.86 a
AC+PL+VC	16.73 a
AC	16.61 a
PLANTA+NEMATÓIDE	15.73 a
AC+PL	15.37 a
PL	15.30 a
VC	15.17 a
PLANTA	0.00 в



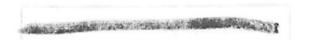
QUADRO 17A. Teste de média para número de ovos por grama de raiz de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condição de campo. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Número de Ovos / g
AC+PL+VC	1442.79 a
PL+VC	1430.83 a
AC	1357.97 a
AC+PL	1257.90 a
PLANTA+NEMATÓIDE	1253.38 a
VC	1249.40 a
PL	1242.09 a
AC+VC	1178.06 a
PLANTA	0 в

QUADRO 18A. Teste de média para altura de plantas (cm) de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com fungos antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condição de campo.

UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Altura de plantas (cm)
PLANTA ·	40.54 a
AC+PL+VC	37.55 a
VC	37.28 a
PL+VC	37.16 a
PL	36.87 a
AC	36.70 a
PLANTA+NEMATÓIDE	35.94 a
AC+PL	35.69 a
AC+VC	



QUADRO 19A. Teste de média para peso de parte aérea (g) de plantas de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), infestadas por *Meloidogyne javanica*, inoculadas com antagonistas isoladamente e concomitantemente, sob condições de campo. UFLA, Lavras, 1996.

Tratamento	Peso de parte aérea (g)
PLANTA	19.25 a
PL	16.82 a
AC+PL	16.65 a
AC+VC	16.56 a
AC	16.50 a
VC	16.48 a
AC+PL+VC	16.45 a
PLANTA+NEMATÓIDE	16.10 a
PL+VC	16.09 a

01-0 X = /1-0

MESTIFICO (M. Terras comentar para per e de parte sanon (g) de piur pe de laborando (g' scienzy sonon de parte de laborando (g' scienzy sonon de laborando de laborando de consequencia de la consequencia

the Bour of the resonal letter vertically the manufacture of periodics of a Duncaria Standard of the de-