

HÉRCULES DINIZ CAMPOS

CONTROLE DE **Meloidogyne incognita** RAÇA 2 EM FEIJOEIRO  
E **Meloidogyne exigua** EM CAFEEIRO COM FUNGOS PRE-  
DADORES E PARASITAS DE OVOS DE FITONEMATÓIDES

Dissertação apresentada à Escola Superior de  
Agricultura de Lavras, como parte das exigências do  
curso de pós-graduação em Agronomia, área de con-  
centração Fitossanidade, para obtenção do grau de  
«Mestre».

Orientador:

Prof. Vicente Paulo Campos

LAVRAS  
MINAS GERAIS — BRASIL  
1994

## OFERECIMENTOS

Aos meus pais, Joaquim e Neide, pelo apoio e estímulo sempre oferecidos.

Aos meus irmãos Leila, Arquimedes, Angela e ao sobrinho Rodrigo, pelo incentivo e carinho.

À Heloisa M.Reis pelo carinho e compreensão nas horas difíceis.

À memória do colega Hélio Heroshi Nozaki.

## AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão de bolsa de estudo durante o curso.

Ao Professor Vicente Paulo Campos, pelos ensinamentos, orientação, estímulo, amizade e exemplo de profissionalismo.

Aos professores Hilário Antonio de Castro e Ricardo Magela de Souza, pelas sugestões apresentadas.

**Aos** Professores do Departamento de Fitossanidade pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Cleber Maximiliano pela grande ajuda na condução dos experimentos e análises laboratoriais.

A Eloisa Leite pela contribuição na execução deste trabalho.

Ao Francisco (Chicão) pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos colegas de pós-graduação, pela amizade e estímulo.

Aos funcionários desta instituição e a todos aqueles que, de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

E a Deus por nos mostrar que tudo o que nos acontece tem sua razão de ser, e dos males surge sempre um bem.

## SUMARIO

LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	xi
RESUMO .....	xiv
SUMMARY .....	xvi
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	4
3 MATERIAL E METODOS .....	17
3.1 Procedência dos isolados de fungos predadores e parasitas de <b>ovos</b> .....	17
3.2 Multiplicação dos fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> e <i>Verticillium chlamydosporium</i> .....	18
3.3 Controle de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 pelos fungos <i>A. conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>P. lilacinus</i> e <i>V. chlamydosporium</i> em feijoeiro sob condições de casa-de-vegetaç80 .....	19
3.3.1 Obtenção das plantas de feijão e preparo do substrato .....	19
3.3.2 Preparo do inóculo e inoculação de <i>M. incognita</i> raça 2 .....	20

3.3.3	Produção do inóculo e inoculação de <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> e <i>Verticillium chlamyosporium</i> .....	21
3.4	Controle de <i>M. exigua</i> pelos fungos <i>A. conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>P. lilacinus</i> e <i>V. chlamyosporium</i> em cafeeiro <b>sob</b> condições de casa-de-vegetaç30 .....	22
3.4.1	Obtenção das mudas de cafeeiro, preparo do substrato, produção do inóculo e inoculação <b>dos</b> fungos .....	23
3.4.2	Preparo do inóculo e inoculação de <i>M. exigua</i> ....	24
3.5	Parâmetros avaliados .....	24
3.6	Delineamento experimental .....	26
4	RESULTADOS E DISCUSSAO .....	28
4.1	Controle de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 pelos fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> e <i>Verticillium chlamyosporium</i> em feijoeiro <b>sob</b> condições de casa-de-vegetaç30 .....	28
4.2	Controle de <i>Meloidogyne exigua</i> pelos fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> e <i>Verticillium chlamyosporium</i> em cafeeiro <b>sob</b> condições de casa-de-vegetaç20 .....	36
5	CONCLUSÕES .....	55
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56

## LISTA DE TABELAS

TABELAS	PÁGINAS
1 Redução de <i>M. incognita</i> raça 2 em vasos com feijoeiro em função da aplicação de <i>A. conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>P. lilacinus</i> ou <i>V. chlamydosporium</i> ao solo. ESAL, Lavras, MG, 1994 .....	33
2 Efeito da época de aplicação de <i>A. conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>P. lilacinus</i> ou <i>V. chlamydosporium</i> em feijoeiro infestado por <i>M. incognita</i> raça 2. ESAL, Lavras, MG, 1994 .....	35
3 Redução de <i>M. exigua</i> em vasos com cafeeiro em função da forma de aplicação de <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> ou <i>Verticillium chlamydosporium</i> ao solo. ESAL, Lavras, MG, 1994 .....	40

## TABELAS

## PÁGINAS

4	Efeito da época de aplicação dos fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>P. lilacinus</i> ou <i>V. chlamydosporium</i> em cafeeiro infestado por <i>M. exigua</i> . ESAL, Lavras, <b>MG, 1994</b> .....	41
5	Efeito entre <b>os</b> tratamentos fúngicos em relação <b>ao</b> número de juvenis do segundo estágio de <i>M. exigua</i> quando utilizou-se a aplicação dos fungos como grãos de trigo colonizados aos <b>14</b> dias antes da inoculação do nematóide; ou emprego de suspensão de esporos em duas aplicações ( <b>3</b> e <b>150</b> dias) após a inoculação do nematóide. ESAL, Lavras, <b>MG, 1994</b> .....	43
6	Efeito da forma de aplicação dos fungos em grãos de trigo e suspensão de esporos apenas quando se inoculou aos <b>3</b> e <b>150</b> dias após a infestação de <i>M. exigua</i> . ESAL, Lavras, <b>MG, 1994</b> ..	44
7	Efeito entre <b>os</b> tratamentos fúngicos em relação a população de <i>M. exigua</i> quando adicionou-se esterco de curral <b>ou</b> casca de café. ESAL, Lavras, <b>MG, 1994</b> .....	45



TABELAS	PÁGINAS
8	Efeito da casca de cafe e esterco de curral quando foram realizadas duas inoculações dos fungos aos <b>3</b> e <b>150</b> dias após a infestação de <b>M. exigua</b> . Lavras, <b>MG, 1994</b> ..... <b>48</b>
9	Efeito no peso fresco do sistema radicular de cafeeiros infestados com <b>M. exigua</b> nos tratamentos que receberam casca de cafe e duas aplicações fúngicas (3 e 150 dias) após a inoculação do nematóide. ESAL, Lavras, <b>MG, 1994</b> ..... <b>51</b>
10	Efeito no peso seco da parte aérea de cafeeiros infestados com <b>M. exigua</b> nos tratamentos que receberam aplicação fúngica ( <b>3</b> e <b>150</b> dias) após a inoculação do nematóide. ESAL, Lavras, <b>MG, 1994</b> . <b>53</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURAS		PAGINAS
1	Redução populacional de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 em feijoeiro pelos fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> ou <i>Verticillium chlamydosporium</i> , ESAL, Lavras, MG, 1994 .....	29
2	Crescimento vegetativo e radicular do feijoeiro inoculado com <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2 e submetido a aplicação dos fungos <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> ou <i>Verticillium chlamydosporium</i> , ESAL, Lavras, MG, 1994 .....	31

FIGURAS	PÁGINAS
<p>3 Efeito de esterco de curral ou casca de café na eficiência dos fungos <i>Arthrobotrys</i> conoides, <i>A. musiformis</i>, <i>Paecilomyces lilacinus</i> ou <i>Verticillium chlamydosporium</i> na redução do número de ovos por grama de raiz de feijoeiro inoculado com <i>Meloidogyne incognita</i> raça 2. ESAL, Lavras, MG, 1994 .....</p>	31
<p>4 Redução populacional de <i>Meloidogyne exigua</i> em cafeeiro pelos fungos <i>Arthrobotrys</i> conoides, <i>A. musiformis</i>, <i>Paecilomyces lilacinus</i>, ou <i>Verticillium chlamydosporium</i>. ESAL, Lavras, MG, 1994 .....</p>	39
<p>5 Peso fresco do sistema radicular de cafeeiros infestados com <i>Meloidogyne exigua</i> e inoculados com <i>Arthrobotrys</i> conoides, <i>A. musiformis</i>, <i>Paecilomyces lilacinus</i> ou <i>Verticillium chlamydosporium</i>. ESAL, Lavras, MG, 1994 .....</p>	50
<p>6 Peso seco da parte aérea de cafeeiros infestados com <i>Meloidogyne exigua</i> e inoculados com <i>Arthrobotrys</i> conoides, <i>A. musiformis</i>, <i>Paecilomyces lilacinus</i> ou <i>Verticillium chlamydosporium</i>. ESAL, Lavras, MG, 1994 .....</p>	52

FIGURAS	PÁGINAS	
7	Altura de plantas de cafeeiros infestados com <i>Meloidogyne exigua</i> e inoculados ou não com <i>Arthrobotrys conoides</i> , <i>A.musiformis</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> ou <i>Verticillium chlamyosporium</i> . ESAL, Lavras, MG, 1994 .....	54

## RESUMO

CAMPOS, Hercules Diniz. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 em feijoeiro e *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com fungos predadoras e parasitas de ovos de fitonematóides. Lavras, ESAL, 1994. 67p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia)'.

Foram realizados experimentos em casa-de-vegetação onde os fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* foram inoculados em vasos sob a forma de suspensão de esporos ou grãos de trigo colonizados em duas épocas diferentes, isto é, antes e após a inoculação de *Meloidogyne incognita* raça 2 em feijoeiro e *Meloidogyne exigua* em cafeeiro, com adição de esterco de curral ou casca de café. Todos os fungos testados reduziram em mais de 50% o número de ovos por grama de raiz e o número de juvenis do segundo estágio tanto em feijoeiro como em cafeeiro quando comparados a testemunha infestada pelo nematóide. A adição ao substrato de grãos de trigo colonizados pelos fungos, foi a

---

<sup>1</sup> Orientador: Vicente Paulo Campos. Membros da banca: Hílário Antonio de Castro e Ricardo Magela de Souza.

melhor forma de aplicação desses antagonistas estudados, tanto no cafeeiro como no feijoeiro, quando comparada a inoculação por suspensão de esporos. A melhor época de aplicação dos fungos antagonistas no feijoeiro foi 14 dias antes da introdução do nematóide *M. incognita* raça 2 e no cafeeiro aos 3 e 150 dias após a inoculação com o nematóide *M. exigua*. Nenhuma diferença significativa foi observada entre as duas fontes de matéria orgânica para os fungos estudados nos experimentos com feijoeiro e com cafeeiro.

## SUMMARY

CAMPOS, Hercules Diniz. Control of *Meloidogyne* incognita raça 2 in bean and *Meloidogyne* exigua in coffee with predator and egg parasite fungi to plant parasitic nematodes. Lavras, ESAL, 1994. 67p. (Dissertation - Mastership in Agronomy)'. .

The experiments were undertaken in pots in the greenhouse with *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium* inoculated separately by spores suspension or infested wheat seeds in two times, i.e., before and after inoculation of *Meloidogyne* incognita race 2 in bean and *Meloidogyne* exigua in coffee, with incorporation of cow manure or coffee husk. All tested fungi reduced in more than 50% the number of eggs per gram of root and the number of juvenilis of second stage either in bean or in coffee as compared to the control infested by the nematode. The addition to the substrate of infested wheat seeds with the fungus, was the best way of application of antagonistic fungus inoculum either in coffee or

---

<sup>2</sup> Orientate: Vicente Paulo Campos. Member of table: Hilário Antonio de Castro e Ricardo Magela de Souza.

in bean as compared to the spore suspension inoculation. The best inoculation time of the antagonistic fungi in bean was 14 days before the nematode *M. incognita* race 2 inoculation, and 3 and 150 days after *M. exigua* in coffee. No significant difference was observed between the two organic matter sources to the tested fungi either in coffee or in bean experiment.



## 1 INTRODUÇÃO

O controle de fitonematóides constitui a ênfase nas pesquisas, especialmente em países tropicais e sub tropicais, onde estes parasitas causam grandes perdas na produção agrícola. De acordo com pesquisa de Sasser (1989), 12,3% da produção mundial é perdida anualmente nas culturas de maior importância, o que corresponde a uma perda monetária anual ultrapassando a casa dos 100 bilhões de dólares quando consideradas todas as culturas.

Para o controle desses fitopatógenos tem-se utilizado com maior frequência a aplicação de nematicidas, plantio de variedades resistentes e rotação de cultura. Porém, essas medidas de controle têm apresentado restrições em suas aplicações. Os nematicidas têm apresentado custos elevados, riscos de contaminação do ambiente e a presença de resíduos tóxicos nos alimentos. A obtenção de variedades resistentes ou tolerantes apresenta alguns obstáculos como resistência específica, muito comum nos vegetais, além das dificuldades em se superar a rusticidade pela adição das características agronômicas desejáveis às cultivares (Novaretti, 1986). Já a rotação de

culturas no controle de fitonematóides é questionável por razões econômicas e de aceitação pelo produtor rural.

O espaço, portanto, se abre para o controle biológico de fitonematóides, onde o emprego de microrganismos é uma alternativa promissora no controle destes fitoparasitas. Inimigos naturais como fungos, bactérias, vírus, protozoários, nematóides, tardígrados, tubelários e insetos, entre outros, têm sido identificados como parasitas ou predadores de nematóides.

A Capacidade de fungos do solo em destruir nematóides é conhecida desde o século passado (Barron, 1977). Porém nas últimas décadas o seu potencial no controle de fitonematóides tem despertado a atenção de vários pesquisadores em diversas partes do mundo, destacando-se os trabalhos com fungos nematófagos.

As pesquisas, utilizando fungos nematófagos no controle biológico de fitonematóides, foram iniciados na Escola Superior de Agricultura de Lavras, em 1988, sob a orientação do professor Vicente Paulo Campos, onde foram processadas amostras de solo e raízes provenientes de varias localidades do Sul de Minas Gerais, obtendo-se, entre outros, isolados de fungos nematófagos dos gêneros *Harposporium*, *Catenaria*, *Haptaglossa* (Silva, 1990); *Arthrobotrys* (Naves, 1991), *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Gliocladium*, *Scyrtalidium* e *Penicillium* (Ribeiro, 1993). Visando dar continuidade a estes trabalhos, desenvolveu-se o presente estudo com os seguintes objetivos: 1) verificar a eficiência em condições de casa de vegetação dos fungos *Arthrobotrys* conoides, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *verticillium chlamydosporium* no controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 em

feijoeiro e de *M. exigua* em cafeeiro; 2) comparar duas formas de aplicação dos fungos no solo; 3) comparar diferentes épocas de aplicação dos fungos antagonistas de fitonematóides; 4) comparar duas fontes de matéria orgânica utilizadas como auxiliares no estabelecimento e desenvolvimento dos fungos no solo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Os primeiros estudos verificando a existência de fungos que atacam nematóides foram iniciados por Zopf (1888), que observou nematóides ativos capturados por hifas fúngicas, e demonstrou que o fungo *Arthrobotrys*, após a captura do nematóide, penetra através da parede do corpo do hospedeiro, crescendo no seu interior e consumindo todo seu conteúdo, levando a um estrangulamento físico através das armadilhas produzidas (Barron, 1977). De 1934 a 1941, Drechsler descreveu com mais detalhes os órgãos de captura dos fungos predadores, concluindo que os nematóides são capturados por órgãos adesivos ou não (Barron, 1977).

Segundo Gray (1988), vários autores como Fresenius, 1855; Zopf, 1888; Drechsler, 1934; Duddington, 1950 a 1972 e Barron a partir de 1969, colaboraram muito para o desenvolvimento inicial do controle biológico de nematóides principalmente no isolamento e descrição de novas espécies de fungos antagonistas.

Os fungos nematófagos podem ser agrupados em três categorias, segundo as modalidades de parasitismo, ou seja,

fungos predadores, fungos endoparasitas de formas ativas e parasitos dos ovos. Entre essas categorias, **os** fungos predadores e **os** fungos parasitos de ovos são os que tem apresentado maior sucesso no controle biológico de fitonematóides (Jatalá, 1986). De acordo com o mesmo autor, as pesquisas com fungos parasitas de ovos, de descoberta recente, têm enfrentado dificuldades na observação dos **ovos** parasitados e no processo de extração deste **solo**. Contudo, este grupo parece ser **um** dos mais promissores como agente no controle biológico de nematóides (Morgan-Jones e Rodriguez Kabana, 1987).

Dentre as pesquisas com inimigos naturais dos nematóides, até então realizadas, o controle biológico de nematóides com fungos corresponde a 76% dos trabalhos publicados (Kerry, 1987, citado por Carneiro, 1992). Entretanto as investigações sobre o potencial desses fungos no controle biológico tem sido restritas devido a grande especificidade dos fitonematóides e condições adequadas de solos ou substrato para o seu desenvolvimento, como: temperatura, umidade, pH e relação C/N equilibrada (Carneiro, 1989). Vários estudos têm mostrado, através de dados experimentais, resultados promissores no controle biológico de nematóides através da utilização de algumas espécies de fungos predadores e parasitos de ovos.

O potencial dos fungos predadores no controle de fitonematóides tem sido comprovado através de sua espetacular ação predatória 'in vitro' despertando a curiosidade para estudos e especulações com esses organismos (Mankau, 1980). Cayrol (1983), na França; confirmou através de seus ensaios de

laboratório, a eficácia de *Arthrobotrys irregularis* como agente no controle biológico capturando larvas ativas de *Meloidogyne*. Do mesmo modo, Cayrol e Combettes (1983) em ensaio "in vitro" também conduzido na França, relataram que *Arthrobotrys robusta*, *A. tortor* e *Monacrosporium salinum* predaram 100% dos juvenis *Anguina agrotis* após 24 horas de ensaio, cujo nematóide responsável pela baixa produção da cultura de champignons. De acordo com os autores, no mesmo período de tempo, *Arthrobotrys oligospora*, *A. oviformis* e *A. musiformis* predaram um baixo número de larvas do nematóide. Também em ensaios conduzidos em laboratório, Poinar Jr. e Jansson (1986), comprovaram a eficácia dos fungos *Arthrobotrys oligospora* e *Monacrosporium ellipsosporum* no parasitismo dos nematóides *Neoplectana* e *Heterorhabditis*. Mankau e Bartnick (1987) trabalhando com *Arthrobotrys* spp e *Dactylaria* spp. e também com algumas espécies de *Monacrosporium* associados a populações de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas cítricas no estado da Califórnia, Estados Unidos, verificaram que os fungos capturaram ativamente "in vitro" larvas infectivas do nematóide.

No Brasil, os trabalhos com fungos nematófagos estão em fase inicial, e alguns resultados "in vitro" já tem mostrado uma boa eficiência dos fungos predadores no controle biológico de nematóide. Santos (1991), verificou que *Monacrosporium ellipsosporum* é um agente bastante promissor para o controle biológico de fitonematóide. Naves e Campos (1991) mostraram a diferença na capacidade predatória entre isolados de duas espécies de *Arthrobotrys* em nematóides iscas *Caenorhabditis*

*elegans* (Maupas) Dougherty e *Panagrellus redivivus* (L.) Goodey com 4 isolados de *A. musiformis* destruindo com maior eficácia os nematóides dentre os 10 testados. De *A. conoides* apenas um isolado destacou-se entre os 8 testados. Segundo os autores a mortalidade dos nematóides pelos isolados dos fungos mais eficazes, foi de 100% entre o 4º e o 6º dia do ensaio.

Em casa-de-vegetação também foi comprovada a eficácia de *Arthrobotrys conoides* no controle de *Ditylenchus miceliophagus* que danificam o cogumelo *Agaricus bisporus* (Cayrol et al., 1978). Nas Filipinas, sob condições de casa-de-vegetação, *A. musiformis* foi mais eficiente que *Dactylaria brochopaga* e *Arthrobotrys oligospora* na redução da infecção de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomate, conduzidas em vasos e em sacos plásticos (Ruelo e Davide, 1979). Al-Hazmi et al. (1982b) obtiveram redução de 54-88% no número de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne incognita*, 45-55% no número de ovos e 67-84% no número de galhas por grama de raízes de milho em vasos tratados com *A. conoides* quando comparado aquelas plantas que não receberam o fungo. De acordo com os mesmos autores o menor número de larvas e galhas ocorreu quando o fungo foi incorporado ao solo duas semanas antes da infestação com o nematóide. Al-Hazmi et al. (1982a) verificaram que a adição de *Arthrobotrys* e torta de alfafa, sozinho ou associado, também reduziu a população de *Meloidogyne incognita* em 43-64% e o número de galhas em 31-33% em plantas de milho sob condições de casa-de-vegetação. *Meloidogyne incognita* sozinho reduziu o peso seco da parte aérea e o peso fresco de raiz quando comparado ao controle sem nematóide.

Pesquisas recentes conduzidas em condições de casa-de-vegetação no Brasil, também têm revelado a eficiência de alguns fungos no controle de fitonematóides. Santos (1991) estudando 6 espécies de fungos nematófagos observou que apenas a espécie *Monacrosporium ellipsosporum* foi promissora no controle biológico de *M. incognita* raça 3 em tomateiro. Porém, *Arthrobotrys musiformis* e *A. conoides* veiculados em grão de trigo foram também eficazes no controle de *Meloidogyne javanica*, quando incorporados antes da inoculação do nematóide em vasos contendo plantas de tomate em condições de casa-de-vegetação (Naves, 1991). Pira (1992), verificou que de seis espécies de *Monacrosporium* veiculados em milho triturado, *M. ameliae* e *M. ellipsosporum* foram mais promissores no controle de *M. incognita*, raça 3 em tomateiro. Do mesmo modo, Dias (1992) comprovou a eficácia de *Arthrobotrys* veiculados em milho triturado e em suspensão de conídios no controle de *Meloidogyne incognita* raça 3 em plantas de tomate.

Resultados bastante promissores também foram obtidos em microplots utilizando *Arthrobotrys conoides* no controle de *M. incognita* em plantas de milho (Al-Hazmi et al., 1982a). Os autores verificaram uma redução de 84% na população do nematóide após 50 dias da inoculação do fungo nematófago.

A falta de um método prático de aplicação desses fungos ao nível de campo tem dificultado as pesquisas nessas condições. Entretanto alguns resultados encorajadores foram obtidos com algumas espécies fúngicas na França. Cayrol et al. (1978) aplicaram *Arthrobotrys robusta* em culturas de cogumelos



infestados por *Ditylenchus* e obtiveram uma redução de 40% da população deste nematóide e um aumento de 20% na produção. O fungo foi formulado em grãos de cereais e vendido comercialmente com o nome de Royal 300, sendo indicado para o controle de *Ditylenchus miceliophagus* em cogumelos comestíveis. Do mesmo modo, Cayrol e Frankowski (1979), comprovaram a eficiência de *A. irregularis* no controle de *Meloidogyne* em tomateiro. O fungo foi produzido em formulações utilizando também grãos de cereais e comercializado com o nome de Royal 350 para o controle de *Meloidogyne*, sendo recomendado na dosagem de 140 'g/m<sup>2</sup>' e sua aplicação no campo deve anteceder o plantio em um mês. Entretanto esse fungo só se mostrou eficiente em condições de baixas infestações de *Meloidogyne* (Cayrol e Frankowski, 1979, Cayrol, 1983, Windrich, 1984). E o produto com este fungo deve ter um uso restrito a determinadas condições e muitas vezes integrado com o uso de nematicidas (Carneiro, 1992).

A maioria dos estudos com inoculação de agentes do controle biológico foi realizada com fungos predadores e muitos resultados não foram muito promissores, devido a alguns fatores não considerados nesses estudos, tais como: seleção e caracterização de linhagens mais patogênicas, especificidade, competitividade, adaptação a diferentes condições do solo, etc (Carneiro, 1992).

Quanto ao potencial dos fungos parasitas de ovos no controle de fitonematóides, os resultados parecem bem mais significativos. Entretanto muitos estudos acerca desses fungos foram realizados com nematóides formadores de cistos, que retêm a

maioria dos ovos internamente ao corpo das fêmeas ou nematóides formadores de galhas, que depositam **os** ovos envoltos por uma substância gelatinosa de constituição lipoprotéica, formando uma massa, que facilita a rápida colonização do fungo (Carneiro, 1992). Estes fungos são parasitas facultativos, podendo crescer rapidamente 'in vitro' e a sua sobrevivência no **solo** não depende da presença dos nematóides. Eles diferem dos outros antagonistas pela sua incapacidade de atuar nas larvas de nematóides, de maneira que muitas vezes o seu efeito não é observado na primeira geração, mesmo em grandes infestações, e sim na redução populacional da 2ª e 3ª gerações [Carneiro, 1986]. Além disto, a maioria das infecções ocorrem em ovos, fêmeas ou cistos aderidos à raiz, mas não quando dispersos no **solo** (Kerry, 1987, citado por Carneiro, 1992).

Tem sido registrado um número considerável de fungos colonizando ovos e cistos de nematóides, mas apenas as espécies *Paezilomyces lilacinus*, *Verticillium chlamidosporium*, *Dactylella oviparasitica*, tem merecido estudos mais detalhados (Carneiro, 1992). Stirling e Mankau (1978) conduzindo ensaio em laboratório, verificaram o parasitismo de *Dactylella oviparasitica* em ovos de *Meloidogyne* sp em Agar e em solo. Os autores observaram ainda que *D. oviparasitica* cresceu saprofiticamente em ovos tratados com brometo de metila ou mesmo tratados pelo calor. Nigh et al. (1980) em experimentos 'in vitro' constataram que **os** fungos *Acremonium strictum* e *Fusarium oxysporum* podem ser utilizados como parasitos de ovos no controle de *Heterodera schachtlii*, parasitando 80% dos ovos com embriões em desenvolvimento, Também

a eficiência de *Paecilomyces lilacinus*, *Verticillium chlamydosporium*, *Fusarium oxysporum* e *Pseudopapulospora kendriekii* foram estudadas no parasitismo de ovos de *Meloidogyne arenaria* (Godoy et al., 1983). Segundo esses autores o isolado de *P. lilacinus* parasitou 47% dos ovos. Também Jatala (1985) verificou que *P. lilacinus* infectou ovos de *M. incognita* e destruiu os embriões em cinco dias, em testes de laboratório e o potencial de infecção dos ovos foi diretamente proporcional ao tempo de exposição ao fungo. Em casa-de-vegetação, Jatala (1985) observou uma redução superior a 70% das galhas e das massas de ovos de *M. incognita* em raízes de plantas de batata (*Solanum tuberosum* L.) originadas de tubérculos tratados com o fungo *P. lilacinus*. Freire e Bridge (1985) concluíram que *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* têm uma considerável habilidade no parasitismo de ovos de *M. incognita*, pois em meio Agar-Agua estas duas espécies infectaram 52,5 e 63,5% dos ovos respectivamente. Porém em condições de campo esses fungos infectaram apenas 14,9 e 12,1% de ovos respectivamente. Segundo os autores o parasitismo do ovos de *Meloidogyne* é menor no solo que 'in vitro'. Outros autores como Kerry et al. (1984), Dackman & Nordbring-Hertz (1985) e Gaspard et al. (1990) também comprovaram tal fato.

Vários ensaios conduzidos em casa-de-vegetação comprovaram o potencial dos fungos parasitas de ovos no controle biológico de fitonematóides. Goswami & Rumpenhorst (1978) constataram que 90% dos ovos de *Globodera rostochiensis* e *Globodera pallida*, foram parasitados durante um experimento em vasos usando solo de amostras de campo onde a população desses

nematóides era baixa. Godoy et al. (1983) verificaram que *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* formulados em grãos de aveia cozidos, reduziram significativamente o número de larvas e galhas de *M. arenaria* em raízes de abóbora (*Cucurbita pepo* L.), quando comparados a testemunha não inoculada com os fungos. Também, redução significativa no número de galhas em raízes de abóbora (*Cucurbita pepo*) em solos naturalmente infestados por *M. arenaria* e inoculados artificialmente com *Gliocladium roseum*, *P. lilacinus* ou *V. chlamydosporium* crescidos em grãos de aveia autoclavados foram comprovados por Rodriguez-Kabana et al. (1984). Segundo esses autores a aveia parece possibilitar uma maior eficiência do fungo no controle de fitonematóides, porque a sua sobrevivência e estabelecimento no solo dependem da disponibilidade de alimento. Villanueva e Davide (1984) verificaram que isolados de *P. lilacinus* foram eficientes na redução da população de *M. incognita* em tomateiro. Segundo os autores a suspensão de esporos de *P. lilacinus* foi mais eficiente no controle que a suspensão micelial, concluindo que o tipo de inóculo é um fator que influencia muito no nível de parasitismo do fungo sobre os ovos de nematóide.

De Leij e Kerry (1991) estudaram o potencial de três isolados de *Verticillium chlamydosporium* os quais reduziram em mais de 80% a população de *M. arenaria* em plantas de tomate após a primeira geração. Constataram também que o seu estabelecimento no solo foi melhor quando se introduziu o fungo na ausência de um suporte alimentício. Talvez este suporte promova o crescimento de

outros microrganismos do solo que competem com o fungo antagonista de nematóide.

Cabanillas et al. (1989) constataram a eficácia de vários isolados de *P. lilacinus*, inoculados em forma de suspensão de esporos separadamente ou associados, ao reduzir a população de *M. incognita* em tomate com influência de temperatura do solo no nível de controle conseguido.

Khan e Hussain (1988), constataram que *P. lilacinus* inoculado individualmente ou simultaneamente com *M. incognita*, *Rotylenchulus reniformis* e/ou *Rhizoctonia solani* em plantas de feijão vigna reduziram significativamente as populações de *M. incognita* e de *R. reniformis*, além de atuar de forma antagônica a *R. solani*.

Ribeiro (1993) também constatou a eficiência de alguns isolados dos fungos *P. lilacinus*, *V. chlamydosporium*, *Gliocladium roseum* e *Scytalidium* sp no controle de *M. javanica* em plantas de tomate sob condições de casa-de-vegetação, onde os fungos foram aplicados como suspensão de esporos. Segundo o autor os melhores tratamentos na redução da população do nematóide foram aqueles que receberam *P. lilacinus* ou *V. chlamydosporium*.

Ensaio conduzidos em microplots também têm revelado o potencial dos fungos antagonistas na redução de populações de fitonematóides. Jatala et al. (1980) compararam a eficiência de *P. lilacinus* aos nematicidas Temik 10 G, Nematicur 5G, Furadan 5G e também à adição de matéria orgânica no controle de *M. incognita* em batata, Os dados demonstraram que plantas de batata em parcelas tratadas com o fungo tiveram uma redução significativa

no índice de galhas nas raízes em relação aos outros tratamentos. além de que. 86% das massas de ovos coletadas estavam infectadas por *P. lilacinus* e 54,7% dos ovos foram destruídos

De Leij et al (1993) constataram alta infestação de *V. chlamydosporium* na população de *M. hapla* parasitando tomate cultivado em microplots e observaram também que o aldicarb na dosagem de 2,8 kg i a lha não afetou a atividade do fungo e proporcionou um controle de 90% dos nematóides. Quando esta dosagem foi aplicada simultaneamente com o fungo o controle foi de 98% o fungo *V. chlamydosporium* sobreviveu no solo por um período mínimo de 123 dias (De Leij et al., 1993)

Cabanillas e Barker (1986) conduziram ensaio em microplots e verificaram o efeito do fungo *P. lilacinus* no controle de *M. Incognita* em tomateiro nas diferentes dosagens do inóculo, e observaram que as dosagens de 20 e 10 gramas de grãos de trigo colonizado pelo fungo aplicado por parcela proporcionaram os melhores níveis de controle do nematóide em relação ao tratamento apenas infestado com *M. incognita*.

Alguns trabalhos a nível de campo também têm mostrado resultados de biocontrole de nematóide através de fungos parasitas de ovos Em muitos campos de cultivo na Inglaterra Kerry et al. (1980), constataram que os fungos *Nematophthora gynophila* e *Verticillium chlamydosporium* proporcionaram mortalidade de 95 a 91% de fêmeas e ovos do nematóide do cisto dos cereais, *Heterodera avenae*. Kerry et al. (1984), produziram inóculo de varios isolados de *V. chlamydosporium* formulado em grilos de aveia, seguido da seca ao ar e trituração. Entretanto. a

produção de **propágulos** foi baixa, portanto seria necessário 62,5 ton do formulado/ha para se chegar à uma concentração de esporos similar aquela encontrada em **solos** supressivos. Na **aplicação** de alguns isolados, o fungo reduziu a população de *H. avenae* no trigo em até 80%. Lay et al. (1982) verificaram também em experimento conduzido no campo o efeito de *P. lilacinus* sobre a população de *M. incognita* e na produção de tomate ao comparar *P. lilacinus* com nematicida e testemunha inoculada somente com o nematóide, os autores não constataram diferenças significativas na produção, mas o número de galhas foi significativamente reduzido nas parcelas tratadas com *P. lilacinus*.

Davide e Zorilla (1985), observaram também que *P. lilacinus* aplicado ao **solo sob** diferentes fontes de inóculo como suspensão de esporos, cultivo em casca + farelo de arroz (50:50) ou Agua de lírio, proporcionou uma redução na população de *M. incognita* em quiabeiro de 71,6, 77,3 e 66,5 respectivamente. Quando se aplicou o nematicida isazofós (3 kg i.a./ha) a redução de *M. incognita* foi de 86,8%. Os autores sugerem **que** *P. lilacinus* pode ser comparativamente mais eficiente ou economicamente melhor em relação ao nematicida. Davide (1988) cita resultados do controle de nematóide obtidos nas Filipinas através da aplicação do fungo *P. lilacinus* nas culturas de batata, tomate e abacaxi infestados com *Meloidogyne* sp, que proporcionaram aumentos na produção de 40 a 80%. Segundo o autor, a firma Asiatic Technologies, em Las Pinas, Manila, está produzindo *P. lilacinus* massivamente e vendendo comercialmente com o nome de Biocon, sendo um preço inferior aos nematicidas tradicionais.

Desta maneira a utilização do fungo antagonista juntamente com outras medidas de controle, futuramente, poderá proporcionar resultados mais promissores (Sisler et al., 1985). Entretanto a falta de um substrato adequado para a produção em massa de fungos antagonistas, tem se tornado um obstáculo a ser superado pelas pesquisas para aplicação a nível de campo no controle de fitonematóides (Davide, 1988). Além disto, há ainda muito pouco conhecimento a cerca dos fatores que influenciam no aumento destes antagonistas no **solo** ou do impacto de outras medidas de controle na sua atividade (Carneiro, 1992). Apesar da eficácia 'in vitro' e 'in vivo' já conseguida com muitas espécies de fungos, não se chegou à utilização de algum produto a base desses organismos pelo agricultor brasileiro (Campos, 1992). Segundo o autor o novo passo envolverá a integração de pesquisas e o enfoque pratico das mesmas, que buscarão as possíveis aplicações destes inimigos naturais de fitonematóides em benefício da agricultura nacional.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Procedência dos isolados dos fungos predadores e parasitas de ovos

Foram utilizadas espécies de fungos predadores *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis* e espécies de fungos parasitas de ovos de nematóide *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*. Tais fungos foram isolados e identificados em trabalhos realizados por Naves (1991) e Ribeiro (1993), no laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da ESAL, e comprovadas as suas capacidades de predação e parasitar ovos de nematóide 'in vitro'. Foram selecionados isolados mais promissores desses fungos e preservados em óleo mineral esterilizado.

### 3.2 Multiplicação de fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamyosporium*

Os isolados preservados foram repicados para placas de Petri com 9 cm de diâmetro contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) com uma gota da mistura dos antibióticos Quemicetina (cloranfenicol) + Tetraciclina para cada 100 ml do meio. As placas foram etiquetadas, vedadas com parafilm e incubadas a 20 ± 4°C por 12 dias. Após este período, para que os fungos mantivessem a patogenicidade, colocou-se um disco de 0,5 cm de diâmetro do meio contendo micélio da cultura de *Arthrobotrys conoides* ou *A. musiformis* no centro de placas de Petri contendo ágar-água 1,5% + nematóides *Panagrellus redivivus* (L.) Goodey. Após a captura dos nematóides, os fungos produziram conídios os quais foram transferidos com auxílio de um estilete flambado e microscópio estereoscópico para placas de Petri contendo meio BDA, em câmara de fluxo laminar. As placas contendo meio BDA mais os conídios dos fungos *A. conoides* e *A. musiformes* foram vedadas com parafilm, etiquetadas e incubadas a 24°C. Também em placas de Petri contendo Agar-água 1,5% algumas massas de ovos de *Meloidogyne* sp foram inoculadas com esporos de *P. lilacinus* com o auxílio de um estilete. Para *V. chlamyosporium* utilizou-se como inóculo micélio fúngico juntamente com conídios e clamidospóros, os quais foram transportados com o auxílio de um estilete para as massas de ovos de *Meloidogyne* sp. A seguir as placas foram vedadas com parafilm, etiquetadas e incubadas a 24°C. Após o

crescimento micelial e esporulação dos fungos sobre as massas de ovos, os fungos foram repicados para placas de Petri contendo BDA + antibiotico (quemicetina + tetraciclina), as quais foram vedadas com parafilm e incubadas novamente. Todos estes processos foram realizados em câmara de fluxo laminar.

### 3.3 Controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 pelos fungos *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* em feijoeiro sob condições de casa-de-vegetaç80

#### 3.3.1 Obtenção das plantas de feijão e preparo do substrato

Plantas de feijão da variedade Carioca 80, foram obtidas a partir de uma pré-germinação de sementes sadias em câmara úmida a 28°C, sendo transplantada uma semente pré-germinada para cada vaso de 2 litros de capacidade com substrato.

O substrato utilizado foi formado de solo mais areia lavada previamente tratada com Brometo de Metila na dosagem de 200 cm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> de substrato, mais esterco de curral curtido ou casca de cafe triturada, ambos esterilizados em autoclave a 120°C por 2 horas. Formaram-se assim duas misturas, uma na proporção 2:1:1 com solo, areia e esterco de curral e outra de 2:1:1 com solo, areia e palha de café triturada. Sobre as duas misturas acrescentou-se ainda, por vaso, 17,5 g de superfosfato simples, 2,5 g de cloreto de potássio, 2,0 g de sulfato de amônio e 4,0 g de calcário dolomítico.

### 3.3.2 Preparo do inóculo e inoculação de *M. incognita* raça 2

O inóculo original de *M. incognita* raça 2 foi obtido de uma população mantida em plantas de tomate sob condições de casa-de-vegetação pelo setor de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da EMBRAPA. Assim, o inóculo foi multiplicado nestas plantas de tomate durante 90 dias sob condições de casa-de-vegetação. Após este período cortou-se a parte aérea das plantas e procedeu-se a extração de ovos pela técnica de Hussey e Barker (1973). Dessa forma, as raízes galhadas foram cortadas em pedaços de 0,5 cm de comprimento e trituradas em liquidificador por vinte segundos com cerca de 200 ml de solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) 0,5%. Em seguida verteu-se a suspensão em peneira de 0,074 mm sobre peneira de 0,028 mm de abertura, lavando-se com Água de torneira em abundância. Os ovos retidos na última peneira foram coletados com auxílio de uma pipeta com Água, e levados ao microscópio estereoscópico para quantificação do inóculo. A seguir procedeu-se a inoculação de 8.000 ovos/vaso contendo uma planta de feijão com um par de folhas cotiledonares através de quatro orifícios abertos com um bastão de vidro ao redor da planta e com auxílio de pipeta esterilizada. Após a inoculação cobriu-se os orifícios com areia lavada e esterilizada.

### 3.3.3. Produção do inóculo e inoculação de *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*

Discos de 5 mm de diâmetro com os fungos *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* ou *V. chlamydosporium* cultivados durante 15 dias em meio de cultura BDA, foram repicados para frascos de vidro contendo grãos de trigo pré-cozidos por um período de 10 minutos, e esterilizados em autoclave a 120°C por 1 hora/dia, em 3 dias consecutivos. A seguir foram mantidos a 24°C por 21 dias, para que o micélio fúngico tomasse todo o substrato.

Os fungos foram inoculados em duas épocas diferentes, no ato do plantio, isto é, 14 dias antes da adição dos ovos de *M. incognita* raça 2 ou uma aplicação 3 dias após a inoculação dos ovos do nematóide, na dosagem de 10 gramas da formulação por litro de substrato.

Outra fonte de inóculo foi em suspensão de esporos. Para isto os isolados fúngicos foram cultivados em placas de Petri contendo meio BDA para esporulação de *A. conoides*, *A. musiformis* ou *P. lilacinus*. Para *V. chlamydosporium* usou-se o meio ypsa composto de extrato de levedura,  $K_2HPO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , amido solúvel e ágar citado por Stirling e Mankau (1978) conforme recomendação de Pria (1992). As placas foram mantidas a 24°C por 21 dias.

Nas colônias cultivadas em placas, acrescentou-se Água destilada e com auxílio de uma alça de platina flambada raspou-se cuidadosamente a superfície das colônias. A suspensão obtida foi avaliada em câmara de contagem de Newbauer, obtendo-se as seguintes concentrações de esporos por mililitro: *A. conoides* -  $2,6 \times 10^4$ , *A. musiformis* -  $2,1 \times 10^4$ , *P. lilacinus* -  $2,9 \times 10^4$ , *V. chlamydosporium* -  $2,0 \times 10^4$ . Foram utilizados 40 ml da suspensão dos fungos por vaso, e inoculados 14 dias antes da adição dos ovos de *M. incognita* raça 2 ou uma aplicação 3 dias após a inoculação do's ovos do nematóide. A inoculação dos 'fungos foi feita em 5 orifícios abertos com bastão de vidro ao redor das plantas com auxílio de proveta graduada. Após a inoculação colocou-se areia lavada e esterilizada sobre os orifícios.

#### 3.4. Controle de *M. exigua* pelos fungos *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* em cafeeiro sob condições de casa-de-vegetaç80

Empregou-se neste ensaio os mesmos isolados citados no item 3.2., no controle de *M. exigua* em vasos contendo mudas de cafeeiro cultivadas em casa-de-vegetação.

### 3.4.1 Obtenção das mudas de cafeeiro, preparo do substrato, produção do inóculo e inoculação dos fungos

Mudas sadias de cafeeiro cultivar Catuai CH:2077-2-5-44 contendo 2 pares de folhas normais, foram produzidas no viveiro de produção de mudas de café da ESAL. A seguir foram transplantadas para vasos contendo 3,0 litros das misturas citadas no item 3.3.1. Entretanto, de acordo com os resultados de análise do solo, foi acrescentado Aquele substrato a seguinte adubação química 7,0 g de superfosfato simples, 5 g de sulfato de amônio e 10 g de calcário dolomítico por vaso. Após 45 dias do plantio adicionou-se 30 ml/vaso da solução contendo 5 g de sulfato de amônio, 0,3 g de cloreto de potássio, 0,0135 g de Borax, 0,0346 g de sulfato de cobre, 0,55 mg de molibdato de amônio e 0,075 g de sulfato de zinco. Esta adubação na forma de solução foi repetida aos 150 dias após o plantio.

A produção do inóculo e a inoculação de *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* nos vasos contendo as mudas de café, foram de maneira similar ao descrito em 3.3.3. Entretanto houve uma reinoculação dos fungos antagonistas aos 150 dias após a primeira inoculação, nos tratamentos onde os fungos foram inoculados 3 dias após a inoculação do nematóide.

### 3.4.2 Preparo do inóculo e inoculação de *M. exigua*

O inóculo de *M. exigua* foi preparado a partir de uma população oriunda de uma lavoura de cafeeiros da ESAL, e multiplicada em plantas de tomate durante 90 dias, sob condições de casa-de-vegetação do setor de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da ESAL. A seguir as raízes foram lavadas e cortadas a 0,5 cm e procedeu-se a extração dos ovos de *M. exigua* de acordo com a técnica de Hussey e Barker (1973).

Estimou-se a concentração do inóculo de *M. exigua* e inoculou-se cerca de 10.000 ovos por vaso contendo uma muda de cafeeiro.

### 3.5 Parâmetros avaliados

Aos 60 dias após o plantio do feijão e aos 10 meses após o transplante do café obteve-se: a) altura das plantas - as plantas foram medidas com o auxílio de uma régua graduada, a partir do colo até o maior ponto de crescimento; b) peso fresco do sistema radicular - os sistemas radiculares, após a lavagem em água parada para eliminar os detritos orgânicos; foram colocados sobre papel absorvente por alguns minutos para que o excesso de água fosse eliminado e em seguida pesados; c) número de ovos por grama de raiz - extraíram-se os ovos de uma amostra bem homogênea de cada sistema radicular através da técnica de Hussey e Barker (1973); d) número de juvenis do segundo estágio por 100 cm<sup>3</sup> de solo - extraíram-se juvenis do segundo estágio pelo método de



flutuação e Centrifugação proposto por Jenkins (1964), retirando-se de cada vaso uma amostra de 500 cm<sup>3</sup> de solo, acondicionando-a em saco plástico. Após a mistura e peneiramento do solo, foram retiradas duas porções de 100 cm<sup>3</sup>. Cada porção foi colocada em becker plástico de 1000 ml e adicionando-se Água suficiente para completar o volume de 600 ml. Esta solução foi agitada por 60 segundos e decantada por 20 segundos. O líquido sobrenadante foi vertido em peneira de 0,250 mm sobre uma peneira de 0,044 mm. Os nematóides retidos na última peneira foram coletados em Água. A suspensão foi vertida em tubos de 50 ml da centrífuga, e centrifugados a 1700 rpm por 5 minutos. O líquido sobrenadante foi descartado e o volume completado com solução de sacarose, obtida através da dissolução de 500 gramas de açúcar comum em Água, completando-se o volume para 1 litro da solução sob agitação. Nova centrifugação foi realizada por 1 minuto a 1700 rpm. Verteu-se cuidadosamente a suspensão na peneira de 0,044 mm sem agitar o precipitado. Os nematóides retidos nesta peneira foram coletados em Água com auxílio de uma pipeta. A contagem dos juvenis do segundo estágio foi feita com o auxílio do microscópio estereoscópico nas duas repetições de cada amostra, obtendo-se assim uma média para compor a tabela de resultados. e) **população total** - a população total dos nematóides foi obtida a partir do número de ovos por sistema radicular mais o número de juvenis do segundo estágio por volume de solo por vaso. f) **Peso seco da parte aérea** - cada planta foi cortada na região do colo, acondicionada em sacos de papel e levada a estufa a 70°C. O

período de permanência na estufa foi o necessário para a estabilização do peso, quando procedeu-se então a pesagem.

### 3.6 Delineamento experimental

Para o feijoeiro, os tratamentos seguiram o delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial  $4 \times 2 \times 2$  sendo 4 isolados fúngicos (*A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*), 2 fontes de inóculo fúngico para aplicação no solo, isto 6, em grãos de trigo e suspensão de esporos, 2 fontes de matéria orgânica, isto 6, esterco de curral e palha de café triturada, 2 épocas de aplicação dos fungos no solo, isto 6, 14 dias antes da inoculação do nematóide e 3 dias após a inoculação dos nematóides. A testemunha constou de nematóide e fonte de matéria orgânica sem aplicação de fungo. Todas os tratamentos tiveram 5 repetições. Para o café o ensaio foi organizado em 4 blocos ao acaso também no esquema fatorial  $4 \times 2 \times 2 \times 2$  mais a testemunha como citado acima. Porém, com relação à época de aplicação os fungos foram adicionados ao solo 14 dias antes da inoculação do nematóide e duas aplicações, ou seja 3 e 150 dias após a inoculação do nematóide.

para análise estatística, os dados referentes aos parâmetros foram somados a uma constante  $K = 2$  e transformados para:

$$y = \frac{(X^i - 1)}{i}$$

onde  $i \neq 0$  Box & Cox (citados por Johnson e Wichern, 1988). Apenas os dados referentes à peso do sistema radicular para cultura do café e peso seco de parte aérea da cultura de feijão não foram transformados, somando-se apenas a constante  $K = 2$ .

As comparações das médias representativas dos tratamentos foram efetuadas pelo teste Tukey 5%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 pelos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* em feijoeiro sob condições de casa-de-vegetação

Os fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* reduziram a população total de *Meloidogyne incognita* raça 2 no feijoeiro, o número de juvenis do segundo estágio em 64,03, 63,15, 86,84 e 61,40% e o número de ovos em 50,06, 62,22, 80,28 e 49,69% respectivamente, quando comparados com a testemunha inoculada com o nematóide (Figuras 1A, B e C), o que demonstra a eficácia destes isolados fúngicos, no controle da espécie *M. incognita* raça 2, como verificado por Naves (1991) que trabalhou com *M. javanica* em tomateiro e isolados de *A. conoides* e *A. musiformis*. Do mesmo modo, Ribeiro (1993) verificou que isolados de *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* reduziram significativamente o número de ovos de *M. javanica* em tomateiro. Godoy et al. (1983) também verificaram uma redução significativa, por *P. lilacinus* no

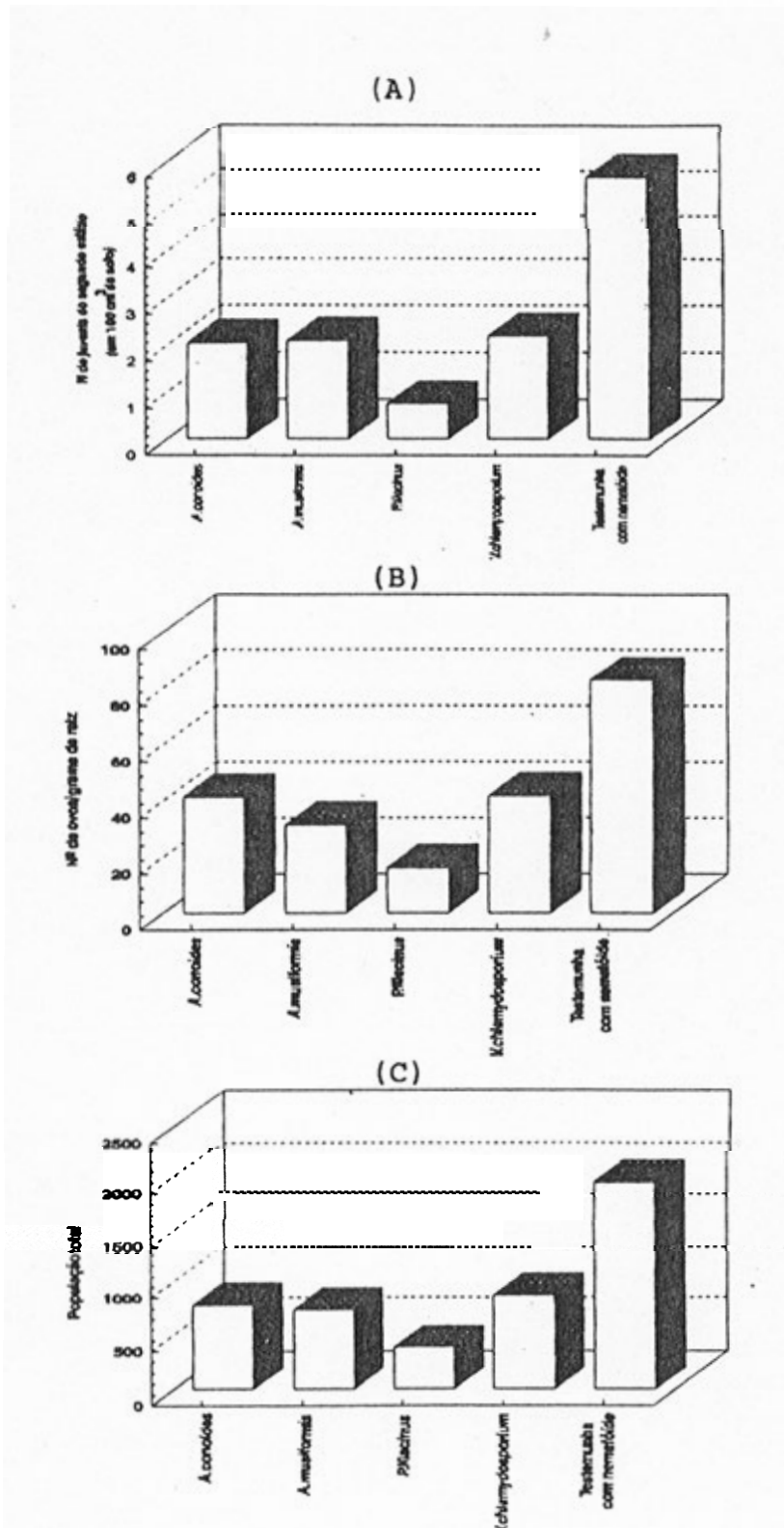


Figura 1 - Redução populacional de *Meloidogyne incognita* raça 2, em feijoeiro pelos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

número de juvenis do segundo estágio e galhas de *M. arenaria* em raízes de abóbora, quando comparada a testemunha inoculada com o nematóide. O efeito em juvenis do segundo estágio deve refletir a eficácia do parasitismo em ovos diminuindo a eclosão. Também, redução superior a 70% na população de *M. incognita* em raízes de batata foi observada por Jatala (1985) quando tratou os tubérculos-sementes com o fungo *P. lilacinus*.

Os tratamentos com *P. lilacinus* e *A. musiformis* proporcionaram um aumento médio de 4,1 e 2,9% respectivamente no peso fresco do sistema radicular do feijoeiro quando comparado com a testemunha inoculada com *M. incognita* raça 2 (Figura 2A), devido talvez ao melhor controle da população desse nematóide refletindo em maior volume de raízes sadias. Maior aumento no peso fresco de raízes do tomateiro foi encontrado por Naves (1991) trabalhando com *A. musiformis* e *A. conoides* com aumento médio de 14,9%. Também Godoy et al. (1983) verificaram em plantas tratadas com *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*, que o peso do sistema radicular foi 78 e 103%, respectivamente, maior em relação a testemunha inoculada com *M. arenaria*.

Os fungos *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* proporcionaram aumento superior a 23% no peso seco de parte aérea de feijoeiro quando comparado com a testemunha inoculada com o nematóide (Figura 2B). Naves (1991) obteve um aumento médio de 18,9% maior em plantas submetidas aos tratamentos com *A. conoides* e *A. musiformis* quando comparados com a testemunha. Ribeiro (1993), também observou que plantas de tomate crescidas em solo contendo apenas *M. javanica* apresentaram

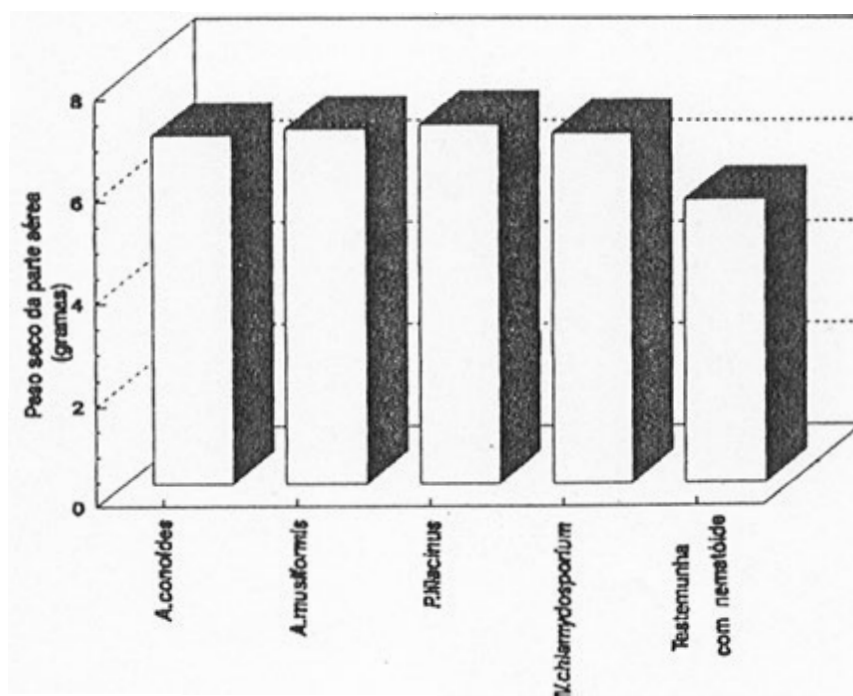
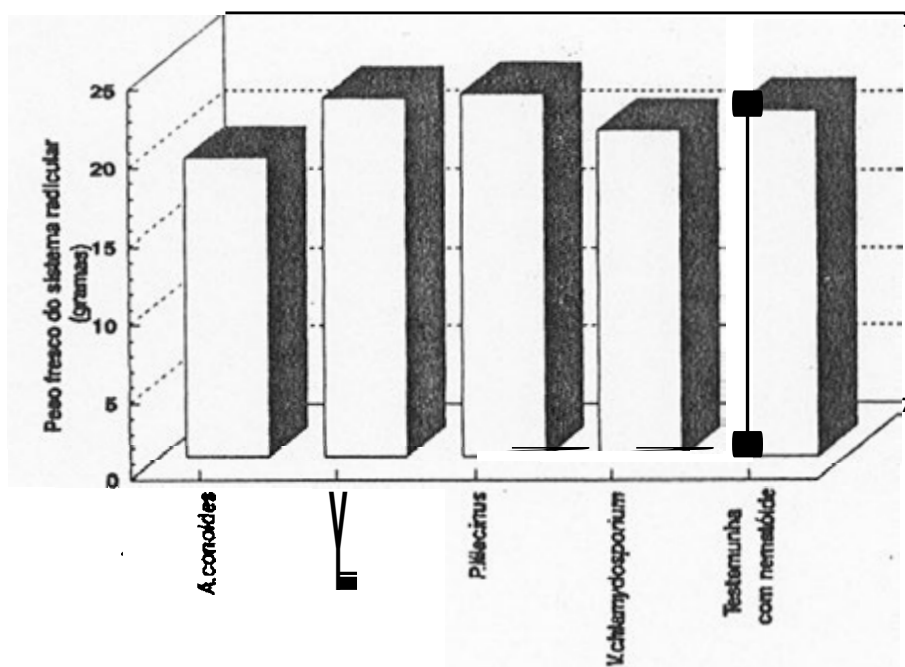


Figura 2 - Crescimento vegetativo e radicular do feijoeiro inoculado com *Meloidogyne incognita* raça 2 e submetido a aplicação dos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

menor peso seco da parte aérea em relação aos tratamentos com *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*. Resultados semelhantes também foram encontrados por Khan e Hussain (1988) e Godoy et al. (1983) trabalhando com *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*. Esses efeitos no desenvolvimento das plantas inoculadas por esses fungos antagonistas de *M. incognita* raça 2 devem ser resultantes da redução do inóculo do nematóide.

Quanto a altura de plantas não foi observado diferença significativa entre os tratamentos fúngicos e também quando esses tratamentos foram comparados a testemunha. Resultados contrários foram obtidos por Naves (1991), verificando aumentos significativos na altura de tomateiros quando os tratamentos contendo *A. conoides* ou *A. musiformis* foram comparados a testemunha inoculada com *M. javanica*. Do mesmo modo Rodriguez-Kabana et al. (1984) e Ribeiro (1993) verificaram aumento na altura de plantas ao comparar vários tratamentos fúngicos, entre eles, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium*. No feijoeiro, talvez, o nível populacional de *M. incognita* raça 2 na testemunha não tenha alcançado o nível limiar de prejuízo, possibilitando a planta uma compensação dos demais danos causados por esse patógeno.

Em relação a forma de aplicação dos fungos no solo, observou-se maior eficiência dos fungos na redução da população de *Meloidogyne incognita* raça 2 no feijoeiro quando aplicados ao solo através de grãos de trigo infestados, ocorrendo diferença significativa no número de ovos por grama de raiz e na população total comparada a suspensão de esporos (Tabela 1). Tal efeito se



TABELA 1 - Redução de *M. incognita* raça 2 em vasos com feijoeiro em função da aplicação de *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* ou *V. chlamydosporium* ao solo. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Forma de aplicação dos fungos no solo	Nº de ovos por grama de raiz	População total
Grãos de trigo infestados	30,2125 a	645,8500 a
Suspensão de esporos	35,4875 b	750,0875 b
Médias	32,8500	697,9687
C.V. (%)	24,388	24,769

Médias das colunas seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo Box e Cox, citados por Johnson e Wichern (1988).

explica pelo suprimento alimentar proporcionado pela semente de trigo no estabelecimento e desenvolvimento mais rápido deste antagonista no solo, e conseqüentemente parasitando maior número de nematóide num menor intervalo de tempo, ou também poderá haver maior concentração de inóculo no grão de trigo em relação a suspensão de esporos. Segundo De Laj e Kerry (1991) quando o fungo é aplicado sobre uma fonte de alimento, este se estabelecerá mais rapidamente no solo. Vários autores também têm obtido resultados semelhantes com aplicação de fungos em grão de cereais como Cayrol et al. (1978), Cayrol e Frankowski (1979), La Mondia e

Brodie (1984), Sisler et al. (1985), Carneiro (1986), Rodriguez-Kabana e Morgan-Jones (1988), Sharma e Trivedi (1989), Naves (1991). Entretanto diferenças significativas não foram observadas entre **os** tratamentos com grãos de trigo infestados e suspensão de esporos em relação ao número de juvenis do segundo estágio por 100 cm<sup>2</sup> de **solo**, peso fresco do sistema radicular, altura de planta e peso seco da parte aérea. **O** suprimento alimentar contido **nos** grãos de trigo deve proporcionar melhor desenvolvimento e esporulação de *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* que parasitam ovos, e não na mesma extensão às espécies de *Arthrobotrys* que parasitam formas ativas de nematóide. como **o** efeito no controle de *M. incognita* raça 2 mesmo com grãos de trigo infestados não foi grande, **o** reflexo no crescimento vegetativo não foi considerado.

Analisando em conjunto **o** efeito da época de aplicação dos fungos no **solo**, observou-se uma redução significativa do número de juvenis do segundo estágio por 100 cm<sup>2</sup> de **solo**, do número de ovos por grama de raiz, e aumento do peso seco da parte aérea quando a aplicação do fungo ocorreu **14** dias antes da inoculação de *M. incognita* raça 2 (Tabela 2). Tal efeito na população de *M. incognita* raça 2 pode ser devido a necessidade do fungo se estabelecer e se desenvolver primeiro no substrato para iniciar **o** parasitismo dos nematóides. Resultados semelhantes foram obtidos por Naves (1991) e Ribeiro (1993) trabalhando com **os** fungos *A. musiformis*, *A. conoides* e *P. lilacinus*, *V. chlamydosporium*. Ambos **os** autores obtiveram melhor nível de controle ao aplicar o fungo **14** dias antes da inoculação do

TABELA 2 - Efeito da época de aplicação de *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* ou *V. chlamydosporium* em feijoeiro infestado por *M. incognita* raça 2. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Épocas de aplicação dos fungos no solo	Nº de juvenis segundo estágio por 100 cm <sup>2</sup> de solo	Nº de ovos por grama de raiz	Peso seco da parte aérea (g)
14 dias antes da inoculação do nematóide	1,50 a	30,90 a	1,65 a
3 dias após a inoculação do nematóide	2,05 b	34,80 b	6,20 b
Médias	1,7750	32,85	6,92
c.v. (%)	23,169	24,398	26,041

Médias das colunas seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo Box e Cox, citados por Johnson e Wichern (1988).

nematóide. Al-Hazmi et al. (1982b) também obtiveram menor número de juvenis do segundo estágio e de galhas de *M. incognita* em plantas de milho quando o fungo foi incorporado ao solo duas semanas antes da inoculação com o nematóide. Cayrol e Frankowski (1979) recomendam a aplicação da linhagem *Arthrobotrys irregularis*, ingrediente ativo do produto comercial Royal 350, um mês antes do plantio da cultura, para melhor estabelecimento do fungo no solo e controle de juvenis do segundo estágio de *Meloidogyne* spp. O aumento do peso seco da parte aérea nos tratamentos com o fungo aplicado antes do nematóide pode ser

conseqüência do maior vigor das plantas pela redução na população do nematóide.

O efeito da matéria orgânica foi diferenciado apenas entre **os** fungos. Assim, pequena redução do número de ovos por grama de raiz **se** observou nos tratamentos com casca de café e *Arthrobotrys conoides* ou *A. musiformis*. Contudo nos tratamentos que receberam *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* observou-se redução no número de ovos em relação ao emprego de esterco de curral (Figura 3).

#### 4.2 Controle de *Meloidogyne exigua* pelos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* em cafeeiro **sob** condições de casa-de-vegetaç80

O fungo *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium* reduziram a população de *Meloidogyne exigua* em mudas de café em mais de 57% quando comparada com a testemunha inoculada apenas com *M. exigua* (Figura 4C). O número de ovos por grama de raiz teve uma redução superior a **61%** pelos tratamentos fúngicos quando comparados com a testemunha. Maiores reduções se observou na aplicação de *A. conoides* ou *P. lilacinus* (Figura 4B). O número de juvenis do segundo estágio por 100 cm' de **solo** foi semelhante nos diversos tratamentos fúngicos, porém significativamente diferentes da testemunha, com redução superior a **58%** (Figura 4A).

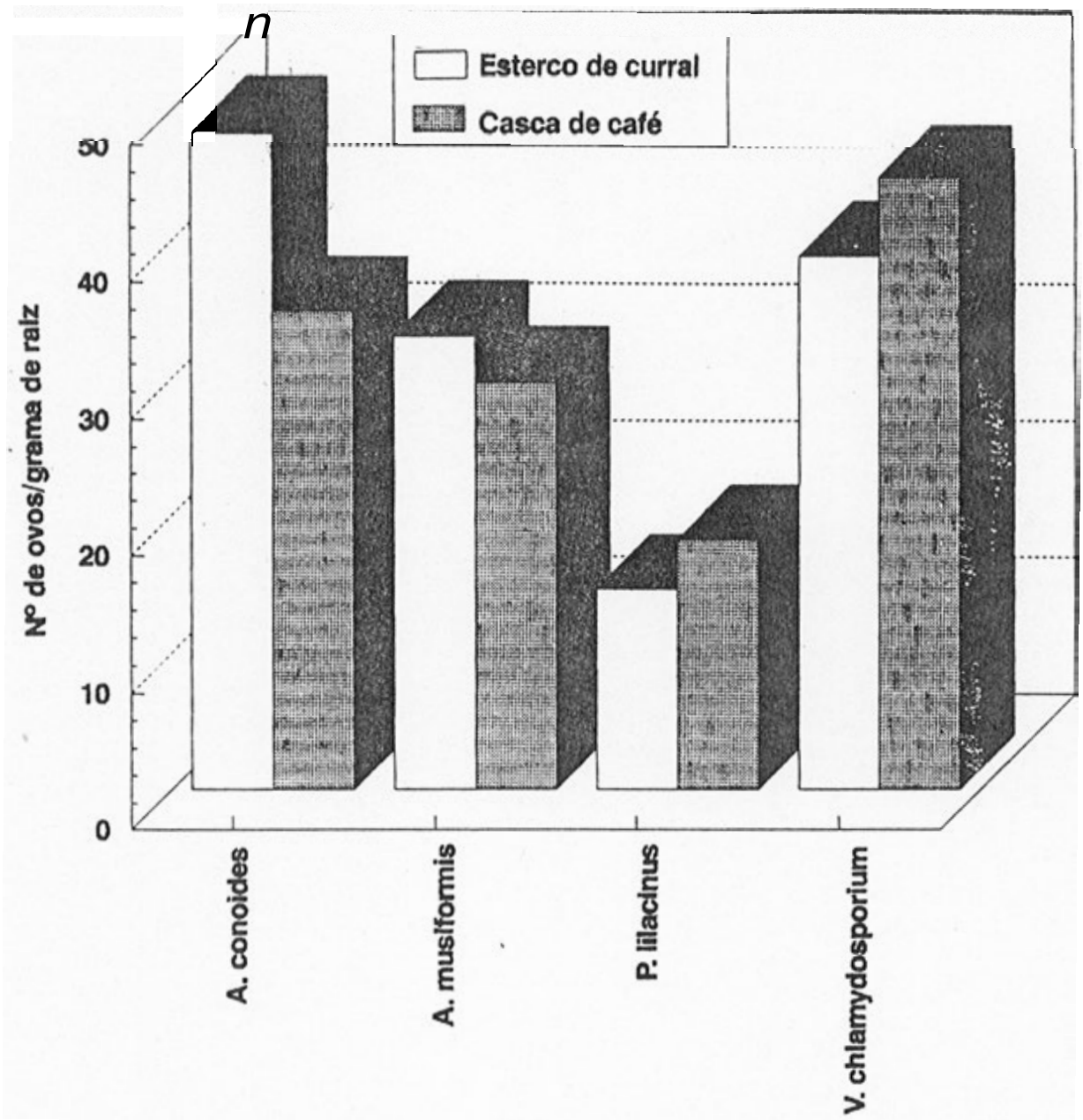


Figura 3 - Efeito de esterco de curral ou casca de café na eficiência dos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium* na redução do número de ovos por grama de raiz de feijoeiro inoculado com *Meloidogyne incognita* raça 2. ESAL, Lavras, MG, 1994.

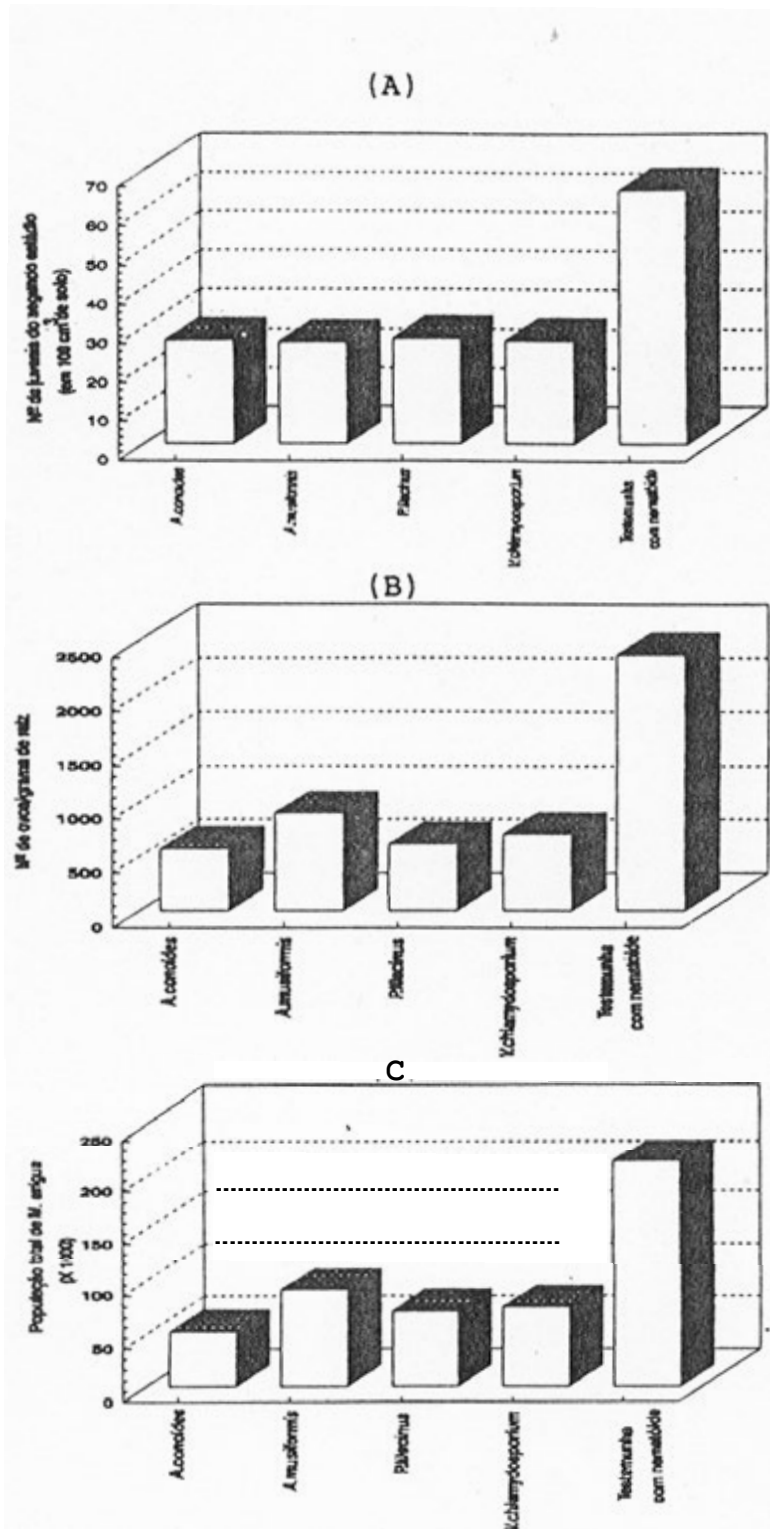


Figura 4 Redução populacional de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro pelos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Também redução de 13 a 34% no número de juvenis do segundo estágio no solo em relação a testemunha foi observada por Freitas (1992) visando o controle de *M. javanica* pelos fungos *Paecilomyces lilacinus* ou *Cylindrocarpon destructans*. Desta forma a eficácia desses fungos antagonistas na redução populacional de diferentes espécies do nematóide *Meloidogyne* tem sido bem comprovada em trabalhos conduzidos em de casa-de-vegetaç80 por vários autores como Godoy (1993), Naves (1991), Ribeiro (1993), entre outros.

A melhor forma de aplicação desses fungos em cafeeiros infestados por *Meloidogyne exigua* foi através de grãos de trigo infestados. Diferença significativa se obteve entre o número de ovos de *M. exigua* em tratamentos que receberam grãos de trigo infestados quando comparados àqueles que receberam a suspensão de esporos (Tabela 3). Dias (1992) testando vários meios de aplicação de *Arthrobotrys* no solo, verificou que em suspensão de esporos o fungo demorou mais tempo para se estabelecer no solo, provavelmente por dispor de fonte energética prontamente disponível, o que levou a dependência das reservas nutricionais dos próprios conídios para superar os efeitos fungistáticos do solo e desta forma foi maior o tempo exigido para o crescimento vegetativo e produção de estruturas de captura. Ensaio realizados por Jatala et al. (1981) também mostraram que *P. lilacinus*, quando aplicado em grãos de cereais ou meio de cultura (batata-dextrose-ágar), estabeleceu-se rapidamente no solo.

TABELA 3 - Redução de *M. exigua* em vasos com cafeeiro em função da forma de aplicação de *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium* ao **solo**. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Formas de aplicação dos fungos no <b>solo</b>	Nº de ovos por grama de raiz
Grãos de trigo infestados	612,453 a
Suspensão de esporos	799,781 b
Médias	706,117
C.V. (%)	28,543

Médias na coluna seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo **Box** e **Cox**, citados por Johnson e Wichern (1988).

A melhor época de aplicação dos fungos antagonistas testados em cafeeiro foi após a inoculação do nematóide *Meloidogyne exigua* em duas vezes, isto é, aos 3 e 150 dias (Tabela 4) resultando em menor ( $P < 0,05$ ) número de **ovos** e população total do nematóide. Talvez repetidas aplicações desses fungos em culturas perenes poderão favorecer esses organismos no **solo** aumentando a eficácia do controle. O melhor controle da população do nematóide resultou em aumento significativo do crescimento das plantas (Tabela 4).

Na aplicação dos fungos antes do nematóide, **os** isolados fúngicos tiveram comportamentos diferentes. A aplicação do fungo *A. musiformis* em grãos de trigo infestados, 14 dias antes da



TABELA 4 - Efeito da época de aplicação dos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* ou *V. chlamydosporium* em cafeeiro infestado por *M. exigua*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Épocas de aplicação dos fungos	Nº de ovos por grama de raiz	População total	Peso seco parte aérea (g)
14 dias antes da inoculação do nematóide	874,437 a	88407,00 a	25,679 a
3 e 150 dias após a inoculação do nematóide	537,796 b	55295,438 b	32,056 b
Médias	706,116	71851,219	28,867
c.v. (%)	28,543	29,384	12,542

Médias nas colunas seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo Box e Cox, citados por Johnson e Wichern (1981).

inoculação do nematóide, reduziu significativamente o número de juvenis do segundo estágio por 100 cm<sup>2</sup> de solo quando comparado ao tratamento com *P. lilacinus* (Tabela 5). Devido ao tipo de parasitismo de *A. musiformis* a inoculação anterior ao nematóide proporcionou ao fungo tempo suficiente para o crescimento micelial e formação de armadilhas o que aumenta sua eficácia no controle (Cooke, 1968). Naves (1991), obteve bom resultado na redução de *M. javanica* em tomateiro quando aplicou *A. conoides* ou *A. musiformis* no solo aos 14 dias antes da inoculação do nematóide. Al-Hazmi et al. (1982b) também observaram redução significativa na população de *M. inconstans* em plantas de milho ao

incorporar *A. conoides* no **solo** duas semanas antes do plantio. Dados semelhantes também foram obtidos por Cayrol e Frankowski (1979). Entretanto, quando **os** fungos foram introduzidos ao **solo** como suspensão de esporos e em duas aplicações, aos **3 e 150** dias após a inoculação do nematóide, verificou-se redução significativa no número de juvenis do segundo estágio por **100 cm'** de **solo** pelo fungo *A. conoides*, em relação ao tratamento com *V. chlamydosporium* (Tabela 5).

Quando se considerou em conjunto todos **os** tratamentos fúngicos e duas aplicações (aos **3 e 150** dias) após a inoculação do nematóide, observou-se uma redução significativa do número de larvas por **100 cm'** de **solo**, empregando-se suspensão de esporos comparada a veiculação por grãos de trigo (Tabela 6), demonstrando a melhor eficácia desses fungos em inoculações repetidas, aumentando o potencial de inóculo desses fungos no **solo**.

Em relação ao efeito comparativo entre casca de café ou esterco de curral na eficiência dos fungos antagonistas não observou-se significância na redução populacional de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro (Tabela 7). Porém, quando se comparou **os** tratamentos fúngicos entre si em análise conjunta, verificou-se menor efeito no parasitismo dos ovos pelo fungo *A. musiformis* quando se empregou esterco de curral (Tabela 7). Como este fungo é um predador, o seu processo de parasitismo está relacionado **sob** forma de nematóides livres no **solo**.

TABELA 5 - Efeito entre **os** tratamentos fúngicos em relação ao número de juvenis do segundo estágio de *M. exigua* quando utilizou-se a aplicação dos fungos como grãos de trigo colonizados aos 14 dias antes da inoculação do nematóide; ou emprego de suspensão de esporos em duas aplicações (3 e 150 dias) após a inoculação do nematóide. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Número de juvenis do segundo estágio/100 cm <sup>2</sup> de solo		
Tratamento fúngicos	Grãos de trigo e 14 dias antes	Suspensão de esporos 3 e 150 dias após
A. conoides	23,37 ab	14,62 b
A. musiformis	19,25 b	25,12 ab
P. lilacinus	35,62 a	20,62 ab
V. chlamydosporium	21,37 ab	33,62 a
Média	24,90	23,49
C.v. (%)	29,196	28,196

Médias nas colunas seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística **os** dados foram transformados segundo Box e **Cox**, citados por Johnson e Wichern (1988).

TABELA 6 - Efeito da forma de aplicação dos fungos em grãos de trigo e suspensão de esporos apenas quando se inoculou aos 3 e 150 dias após a infestação de *M. exigua*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Forma de aplicação do fungo no solo	Nº de juvenis do segundo estágio por 100 cm <sup>2</sup> de solo
Grão de trigo	30,531 a
Suspensão de esporos	23,500 b
Média	27,015
CV (%)	28,196

Médias na coluna seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo Box e Cox, citados por Johnson e Wichern (1988).

Quando se utilizou casca de café e duas aplicações fúngicas após a inoculação do nematóide, isto é, aos 3 e 150 dias, verificou-se que o fungo veiculado em grãos de trigo proporcionou controle significativo ( $P \leq 0,05$ ) do número de juvenis do segundo estágio por 100 cm<sup>2</sup> de solo nos tratamentos contendo *A. musiformis* ou *P. lilacinus* ao comparar o tratamento contendo *A. conoides* (Tabela 7). Contudo mesmo a aplicação de suspensão de esporos do fungo *A. conoides* reduziu significativamente o número de juvenis em relação ao tratamento fúngico com *V. chlamydosporium* (Tabela 7), devido a melhor eficácia deste fungo no parasitismo da população de

TABELA 7 - Efeito entre os tratamentos fúngicos em relação a população de *M. exigua* quando adicionou-se esterco de curral ou casca de café. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Tratamentos fúngicos	T1		T2		T3	
	Esterco curral	Casca de café	Grao de trigo	Suspensão de esporos	Antes	Após
	Nº de ovos/grama raiz		Nº de juvenis do segundo estágio/ 100 cm <sup>2</sup> de solo		Nº de juvenis do segundo estágio/ 100 cm <sup>2</sup> de solo	
A. conoides	584,62	b 583,50	a 43,50	a 15,50	b 24,25	ab 33,25
A. musiformis	1126,75	a 692,62	a 11,75	b 21,25	ab 14,50	b 53,25
P. lilacinus	505,37	b 733,37	a 16,50	b 18,50	ab 39,00	a 36,50
V. chlamydo sporium	662,37	b 760,31	a 29,25	ab 37,00	a 20,00	ab 20,25
Média	719,77	692,45	25,25	23,06	24,43	35,81
c.v. (%)	28,543	28,543	28,196	28,196	28,196	28,196

Médias nas colunas seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo Box e Cox, citados por Johnson e Whichern (1988).

- T1 - Tratamentos que receberam esterco de curral ou casca de café.  
T2 - Tratamentos que receberam casca de café e duas aplicações fúngicas (3 e 150 dias) após a inoculação do nematóide, sob a forma de grãos de trigo colonizados-ou suspensão de esporos.  
T3 - Tratamentos que receberam esterco de curral e uma aplicação fúngica 14 dias antes ou duas aplicações (3 e 150 dias) após a inoculação do nematóide sob a forma de grãos de trigo.

*M. exigua*. Entretanto, o emprego de esterco de curral não proporcionou nenhuma diferença entre os tratamentos ao aplicar os fungos em duas inoculações após a infestação por *M. exigua*.

O número de juvenis do segundo estágio por 100 cm<sup>3</sup> de solo foi significativamente reduzido quando *A. musiformis* foi aplicado antes da inoculação do nematóide e se utilizou esterco de curral e grãos de trigo infestados pelo fungo, comparado com a aplicação de *P. lilacinus*, seguido pelos tratamentos fúngicos *V. chlamydosporium* e *A. conoides* (Tabela 7). Entretanto quando se utilizou os tratamentos fúngicos em duas aplicações, isto é, aos 3 e 150 dias após a inoculação do nematóide, também empregando esterco de curral e o fungo veiculado em grãos de trigo, *V. chlamydosporium* reduziu significativamente o número de juvenis do segundo estágio por 100 cm<sup>3</sup> de solo quando comparado com *A. musiformis*, seguido pelos fungos *A. conoides* e *P. lilacinus* (Tabela 7). De modo geral a aplicação dos fungos predadores *A. conoides* e *A. musiformis* antes da inoculação do nematóide resultou em maior redução do número de juvenis do que a aplicação após a inoculação do nematóide. Já os fungos parasitas de ovos foram indiferentes ao tempo de inoculação. Os fungos predadores requerem período de tempo suficiente para se estabelecer e colonizar o solo. Cayrol e Frankowski (1979) tem também demonstrado que aplicação de fungos predadores como *Arthrobotrys* deve anteceder a inoculação do fitonematóide.

Com duas aplicações dos fungos, isto é, aos 3 e 150 dias após a inoculação de *M. exigua*, a fonte de matéria orgânica casca de café, concorreu para redução significativa do número de juvenis do segundo estágio e número de ovos em relação a esterco de curral (Tabela 2), o que não aconteceu quando se adicionou os fungos antes da inoculação do nematóide. Observa-se a relevância

da natureza da materia orgânica na aplicação desses fungos após a inoculação do nematóide, porém não se conhece **os** aspectos que favorecem esses fungos na casca de café comparado com **o** esterco de curral.

Cayrol (1983) testou várias fontes de materia orgânica em relação ao estabelecimento e desenvolvimento de *Arthrobotrys irregularis* introduzido antes da inoculação do nematóide no **solo** e observou uma variação no desenvolvimento do fungo no **solo** em relação ao tipo de composto orgânico. Segundo **o** autor, quando se incorporou ao **solo** turfa, esterco bovino ou esterco de carneiro **o** fungo teve um melhor desenvolvimento no solo após **os** 30 dias da incorporação, **o** que não aconteceu quando se aplicou humus comercial ou composto urbano. Redução de 43-64% na população de *M. incognita* em plantas de milho foi obtido por Al-Hazmi et al. (1982a), quando utilizou torta de alfafa como fonte de materia orgânica e *A. conoides* introduzido antes do nematóide no **solo**. Verificou-se ainda que a materia orgânica proporcionou melhores condições para **o** estabelecimento do fungo no **solo**. Porém estudos semelhantes precisam ser realizados com a aplicação de fungos antagonistas combinados a outros tipos de matéria orgânica.

O peso fresco do sistema radicular foi pouco influenciado pela aplicação dos fungos. Maior peso foi observado para **os** tratamentos que continham *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* obtendo-se aumentos de 15,86 e 2,96% respectivamente em relação a testemunha com **o** nematóide (Figura 5). Naves (1991) constatou um aumento medio no peso fresco **do** sistema radicular de 14,9% nos

TABELA 8 - Efeito da casca de café e esterco de curral quando foram realizadas duas inoculações dos fungos aos 3 e 150 dias após a infestação de *M. exigua*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Fonte de matéria orgânica	Nº de juvenis por 100 cm <sup>3</sup>	Nº de <b>ovos</b> por grama de raiz
Esterco de curral	29,875 a	661,906 a
Casca de café	24,156 b	413,687 b
Média	27,015	537.796
CV (%)	28,196	28,543

Médias nas colunas seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo Box e Cox, citados por Johnson e Wichern (1988).

tratamentos contendo *A. conoides* ou *A. musiformis* quando comparado a testemunha. Aumentos de 78 e 103% em relação a testemunha inoculada apenas com *M. arenaria*, foi encontrado por Godoy et al. (1983) trabalhando com os fungos *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* respectivamente. O baixo efeito encontrado no peso fresco do sistema radicular pode estar relacionado as condições proporcionadas em casa-de-vegetação, as quais minimizaram o fator stress nos tratamentos com alta infestação pelo fitonematóide. Contudo, a aplicação fúngica aos 3 e 150 dias após a inoculação do nematóide no solo contendo casca de café como fonte de matéria orgânica, verificou-se maior peso do



sistema radicular quando se inoculou *P. lilacinus* em relação a *A. musiformis* (Tabela 9).

Quanto ao peso seco da parte abrea houve pouca influência pela aplicação dos fungos, observando-se aumento de peso em 6,6% em relação a testemunha inoculada com *M. exigua* apenas para o tratamento com *P. lilacinus*, sendo que para os demais tratamentos o peso seco foi inferior ao da testemunha (Figura 6), concordando com os resultados obtidos por Godoy et al. (1983); Khan e Hussain (1988) e Ribeiro (1993), que trabalharam com os fungos *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*. Quando se realizaram duas aplicações fúngicas aos 3 e 150 dias após a inoculação do nematóide, *P. lilacinus* também proporcionou maior peso seco de parte aérea em relação aos outros tratamentos fúngicos (Tabela 10).

Em relação a altura de plantas não foi observada diferença significativa entre os tratamentos fúngicos, porém, verificou-se um aumento médio de 6,8% na altura das plantas de cafeeiro para todos os tratamentos fúngicos quando comparado a testemunha inoculada apenas com o nematóide (Figura 7). Aumento na altura de plantas foi obtido por Naves (1991) trabalhando com *A. conoides* e *A. musiformis* e por Rodriguez-Kabana et al. (1984) e Ribeiro (1993) trabalhando com *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium*.

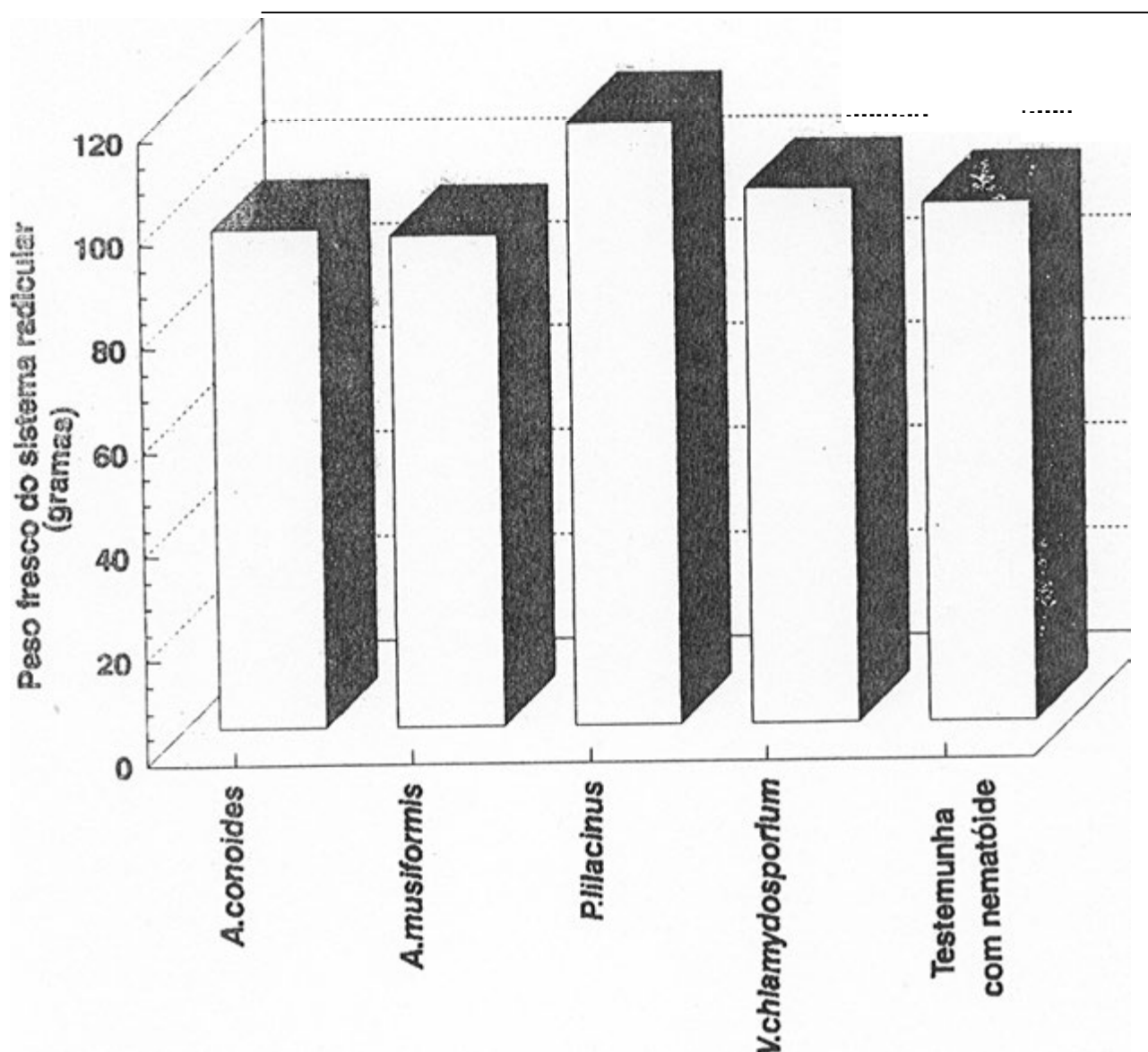


Figura 5 - Peso fresco do sistema radicular de cafeeiros infestados com *Meloidogyne exigua* e inoculados com *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

TABELA 9 - Efeito no peso fresco do sistema radicular de cafeeiros infestados com *M. exigua* nos tratamentos que receberam casca de café e duas aplicações fúngicas (3 e 150 dias) após a inoculação do nematóide. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Tratamentos fúngicos	Peso fresco do sistema radicular (gramas)
A'. conoides	103,90 ab
A. musiformis	78,26 b
P. lilacinus	134,60 a
v. chlamydosporium	115,89 ab
Média	108,16
c.v. (%)	40,745

Médias da coluna seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística Os dados foram transformados segundo Box e Cox, citados por Johnson e Wichern (1988).

Maiores ênfases deverão ser direcionadas 'ao estudo do efeito fúngico combinado a fontes de matéria orgânica em diferentes épocas de aplicação do fungo sob condições de casa-de-vegetação e de campo, em experimentos de longo prazo, no controle de outras espécies e raças de *Meloidogyne* como também para outros gêneros e espécies de fitonematóides.

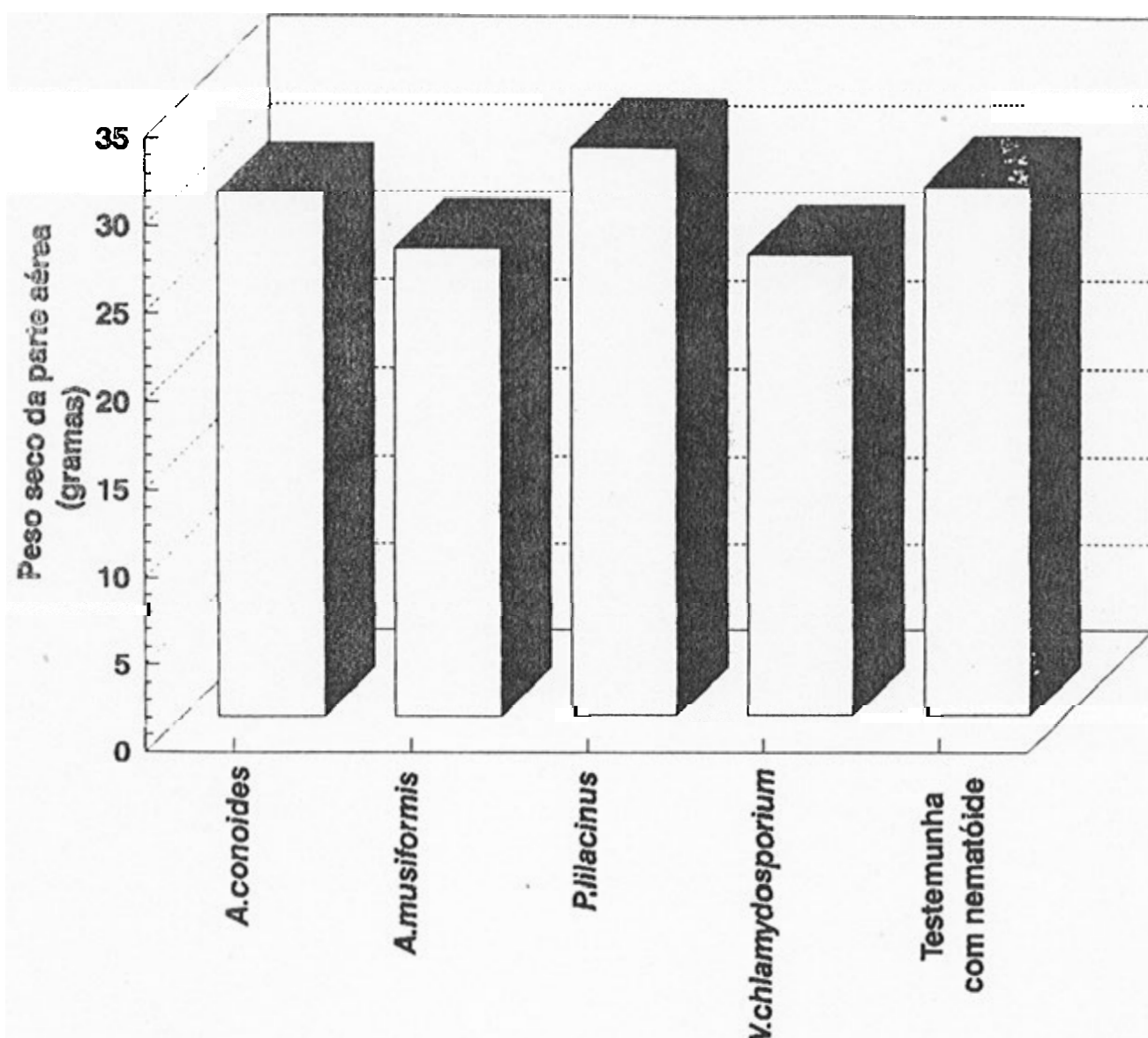


Figura 6 - Peso seco da parte aérea de cafeeiros infestados com *Meioidogyne exigua* e inoculados com *Arthrobotrys conooides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

TABELA 10 - Efeito no peso seco da parte aérea de cafeeiros infestados com *M. exigua* nos tratamentos que receberam aplicação fúngica (3 e 150 dias) após a inoculação do nematóide. **ESAL**, Lavras, MG, 1994.

Tratamentos fúngicos	Peso seco da parte aérea (gramas)
<i>A. conoides</i>	33,6 ab
<i>A. musiformis</i>	28,41 b
<i>P. lilacinus</i>	39,99 a
<i>V. chlamyosporium</i>	26,22 b
Média	32,05
C.V. (%)	12,542

Médias da **coluna** seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%. Para análise estatística os dados foram transformados segundo **Box e Cox**, citados por Johnson e Wichern (19883).

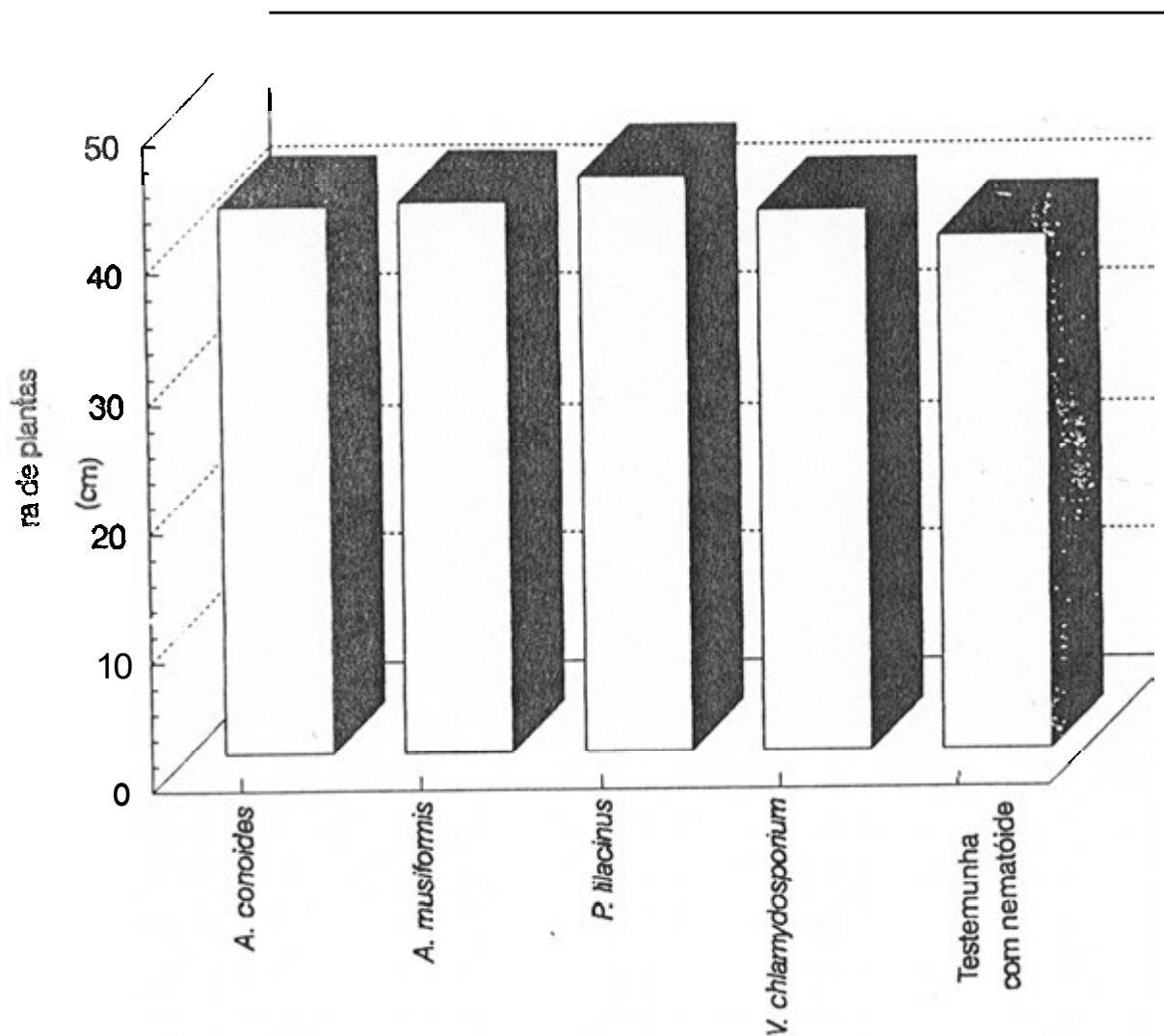


Figura 7 - Altura de plantas de cafeeiro infestados com *Meloidogyne exigua* e inoculados ou não com *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* ou *Verticillium chlamydosporium*. ESAL, Lavras, MG, 1994.

## 5 . CONCLUSÕES

i. Os fungos *A. conoides*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* foram eficazes na redução populacional de *Meloidogyne incognita* raça 2 no feijoeiro e de *M. exigua* no cafeeiro.

2. A melhor forma de aplicação dos fungos antagonistas estudados, tanto no cafeeiro como no feijoeiro, foi através de grãos de trigo colonizados.

3. A melhor época de aplicação dos fungos antagonistas no feijoeiro foi 14 dias antes da introdução do nematóide *M. Incognita* raça 2 e no cafeeiro aos 3 e 150 dias após a inoculação com o nematóide *Meloidogyne* *exigua*.

4. Nenhuma diferença significativa se observou entre as duas fontes de matéria orgânica para os fungos estudados no experimento com feijoeiro. No experimento com cafeeiro ao utilizar-se duas aplicações fúngicas 3 e 150 dias após a inoculação de *M. exigua*, a fonte de matéria orgânica casca de café concorreu para maior redução da população do nematóide em relação a esterco de curral.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-HAZMI, A.S.; SCHIMITT, D.P.; SASSER, J.N. Populations dynamics of *Meloidogyne incognita* on corn grown in soil infested with *Arthrobotrys conoides*. Journal of Nematology, DeLeon Springs, v.14, n.1, p.44-50, 1982a.

AL-HAZMI, A.S.; SCHIMITT, D.P.; SASSER, J.N. The effect of *Arthrobotrys conoides* on *Meloidogyne incognita* populations densities in corn as influenced by temperature, fungus inoculum density and of fungus introduction in the soil. Journal of Nematology, DeLeon Springs, v.14, n.2, p.168-174, 1982b.

BARRON, G.L. The nematode-destroying fungi. Ontario: Canadian Biological Publications, 1977. 140p.

CABANILLAS, E.; BARKER, 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, 1986.



CABANILLAS, E.; BARKER, R.; NELSON, L.A. Growth of isolates of *Paecilomyces lilacinus* and their efficacy in biocontrol of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Journal of Nematology*, West Lafayette, v.21, n.2, p.164-172, 1989.

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. Etude des possibilités d'utilisation du champignon nématophage *Paecilomyces lilacinus*, comme agent de lutte biologique contre *Meloidogyne arenaria*. Montpellier: USTL, 1986. 119p. (Tese - Doutorado em Nematologia).

CARNEIRO, R.M.D.G. Perspectivas de utilização de fungos do solo no biocontrole de nematóides do gênero *Meloidogyne*: influência do tipo de solo e fontes de matéria orgânica. In: REUNIAO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 3, Piracicaba, 1989. Anais... Piracicaba, Fundação Cargill, 1989. p.76-82.

CARNEIRO, R.M.D.G. Principios e tendências do controle biológico de nematóides com fungos nematófagos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.27, p.113-121, 1992.

CAYROL, J.C. Lute biologique contre les *Meloidogyne incognita* au moyen d'*Arthrobotrys irregularis*. *Revue de Nématologie*, Paris, v.6, n.2, p.265-273, 1983.

CAYROL, J.C.; COMBETTES, S. Etude de l'agressivité de quelques champignons nématophages vis-a-vis d' *Anguina agrostis*. **Revue de Nématologie**, Paris, v.6, n.1, p.153-154, 1983.

CAYROL, J.C.; FRANKOWSKI, J.P. Une méthode de lutte biologique contre les nematodes à galles de racines appartenant au genre *Meloidogyne*. *Revue Horticole*, Paris, v.193, p.14-23, 1979.

CAYROL, J.C.; FRANKOWSKI, J.P.; LANICCE, A.; D'HARDEMARE, G.; TALON, J.P. Mise au point d'une méthode de lutte biologique à l'ai de d'un hyphomycete prédateur: *Arthrobotrys robusta* souche "Antipolis" (Royal 300). *Revue Horticole*, Paris, v.184, n.23<sup>1</sup>-30, 1978.

COOKE, R.C. Relationships between nematode-destroying fungi and soil-borne phytonematodes. *Phytopathology*, Madison, v.58, p.909-913, 1968.

DACKMAN, C.; NORDBRING-HERTZ, B. Fungal parasites of cereal nematode, *Heterodera avenae*, in southern Sweden. **Journal of Nematology**, West Lafayette, v.17, n.1, p.50-55, 1985.

- DAVIDE, R.G. Nematodes problems affecting agriculture in the Philippines. *Journal of Nematology, Lawrence*, v.20, n.2, p.214-218, 1988.
- DAVIDE, R.G.; ZORILLA, R.A. Evaluation of a fungus *Paecilomyces lilacinus* for the biological control of root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* on okra as compared with nematicid isazofos. *Philippine Agriculturist, Laguna*, v.68, p.493-500, 1985.
- DE LEIJ, F.A.A.M. ; KERRY, B.R. The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* as a potencial biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. *Revue de Nématologie, Paris*, v.14, n.1, p.151-164, 1991.
- DE LEIJ, F.A.A.M.; KERRY, B.R.; DENNEHY, J.A. *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and micro-plot tests. *Nematologica, Leiden*, v.39, p.115-126, 1993.
- DIAS, W.P. Controle de *Meloidogyne incognita*, raça 3, com *Arthrobotrys* spp. Viçosa: UFV, 1992. 71p. (Tese - Mestrado em Agronomia).

- FREIRE, F.E.O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamyosporium*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasilia, v.10, p.577-596, 1985.
- FREITAS, de L.G. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* pelos fungos *Paecilomyces lilacinus* e *Cylindrocarpon destructans*. Viçosa: UFV, 1992. 57p. (Tese - Mestrado em Agronomia).
- GASPARD, J.T.; JAFFEE, B.A.; FERRIS, H. Association of *Verticillium chlamyosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. *Journal of Nematology*, Lawrence, v.22, n.2, p.207-213, 1990.
- GODOY, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G. Fungal parasites of *Meloidogyne arenaria* eggs in Alabama soil. A mycological survey and greenhouse studies. *Nematropica*, DeLeon Springs, v.13, n.2, p.201-213, 1983..
- GOSWAMI, B.K.; RUMPENHORST, H.J. Association of an unknown fungus with potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica*, Leiden, v.24, p.251-256, 1978.
- GRAY, N.F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: POINAR, Jr., G.O.; JANSSON, H.B., (eds.). *Diseases of nematodes*. Boca Raton: CRC Press, 1988. v.2, p.3-38.

- 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.
- 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.; KALTENBACH, R.; BOCANGEL, M.; DEVAUX, A.J.; CAMPOS, R. Field application of *Paezilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.12, n.4, p.226, 1980.
- JATALA, P.; SALAS, R.; KALTENBACH, R.; BOCANGEL, M. Multiple application and long-term effect of *Paezilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field conditions. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.13, n.4, p.445, 1981.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease** Reporter, Washington, v.48, p.692, 1964.

JOHNSON, S.A.; WICHERN, D.W. **Applied multivariate statistical analysis.** 2.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1988. 607p.

KERRY, B.R.; CRUMP, D.H.; MULLEN, L.A. Parasitic fungi, soil moisture and multiplication **of** the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. **Nematologica**, Leiden, v.26, p.57-68, 1980.

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 of Applied Biology**, London, v.105, n.3, p.509-516, 1984.

KHAN, T.A.; HUSSAIN, S.T. Studies on the efficacy of *Paecilomyces lilacinus* as biocontrol agent against a disease complex caused by the interaction of *Rotylenchulus reniformis*, *Meloidogyne incognita* and *Rizoctonia solani* on cowpea. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v.16, n.2, p.229-231, 1988.

LA MONDIA, J.A.; BRODIE, B.B. An observation chamber technique for evaluating potential biocontrol agents of *Globodera rostochiensis*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.16, n.1, p.112-115, 1984.

LAY E.C LARA, J JATALA P · GONZALEZ, F. Evaluacion preliminar del comportamiento de *Paecilomyces lilacinus* como controlador biológico del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*, in tomato industrial. **Nematropica**, DeLeon Springs, v.12, n.2, p.154, 1982.

MANKAU, R. Biocontrol: fungi as nematode control agents. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.12, n.4, p.244-252, 1980.

MANKAU, R.; BARTNICK, E.W. Studies on the biology of nematode-trapping fungi associated with citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.19, n.4, p.540, 1987.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Fungal biocontrol for the management of nematodes. In: VEECH, J.; DICKSON, D.M., (eds.). **Vistas on nematology: a comemoration of the twenty-fifth anniversary of the Society of the Nematologists Maryland, Maryland: E.D. Painter Printting, 1987. p.94-99.**

NAVES, R. de L. **Fungos predadores de nematóides no sul de Minas Gerais: ocorrência e potencial para o controle biológico.** Lavras: ESAL, 1991. 67p. (Tese - Mestrado em Agronomia).

- NAVES, R. de L.; CAMPOS, V.P. Ocorrência de fungos predadores de nematóides no sul de Minas Gerais e estudo da capacidade predatória e crescimento 'in vitro' de alguns de seus isolados. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.15, n.167, p.72-76, 1991.
- NIGH, E.A.; THOMASON, I.J.; VAN GUNDY, S.D. Identification and distribution of fungal parasites of *Heterodera schachtii* eggs in California. **Phytopathology**, Saint Paul, v.70, n.9, p.885-889, 1980.
- NOVARETTI, W.R.T. Controle biológico de nematóides fitopatogênicos. In: REUNIAO SOBRE CONTROLE BIOLOGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1, Piracicaba, 1986. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.24-25.
- POINAR Jr., G.O.; JANSSON, H.B. Infection of *Neoplectana* and *Heterorhabditis* (Rhabditida/Nematoda) with the predatory fungi, *Monacrosporium ellipsosporum* and *Arthrobotrys oligospora* (Moniliales/Deuteromycetes). **Revue de Nématologie**, Paris, v.9, n.3, p.241-244, 1986.
- PRIA, M.D. Controle biológico de *Meloidogyne incognita*, raça 3, pelos fungos *Verticillium chlamydosporium* e espécies de *Monacrosporium*, isolados ou combinados. Viçosa: UFV, 1992. 101p. (Tese - Mestrado em Agronomia).



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 Agronomia).

RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G. Potential for nematode control by mycofloras endemic in the tropics. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.20, n.2, p.191-203, 1988.

RODRIGUEZ-KABANA, R.; MORGAN-JONES, G.; GODOY, G.; GINTIS, S.O. Effectiveness of species of *Gliocladium*, *Paecilomyces* and *Verticillium* for control of *Meloidogyne arenaria* in field soil. **Nematropica**, DeLeon Springs, v.14, p.155-170, 1984.

RUELO, J.S.; DAVIDE, R.G. Studies on the control of *Meloidogyne incognita*. The effectiveness of nematode trapping fungi alone and in combination with chicken manure and Hostathion. **Philippine Agriculturist**, Laguna, v.62, p.153-158, 1979.

SANTOS, M.A. **Detecção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos do Brasil.** Viçosa: UFV, 1991. 97p. (Tese - Mestrado em Agronomia).

SASSER, J.N. **Plant-parasitic nematodes: the farmers's hidden enemy.** Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1989. 115p.

SHARMA, A.; TRIVEDI, P.C. Influence of inoculum levels of fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson on the biocontrol of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Chitwood). **International Nematological Network Newsletters**, Raleigh, v.6, n.2, p.27-29, 1989.

SILVA, J.F.V. **Ocorrência de fungos endoparasitas de nematóides no sul de Minas Gerais e seu potencial no controle biológico de nematóides fitoparasitas**. Lavras: ESAL, 1990. 63p. (Tese - Mestrado em Agronomia).

SISLER, G.M.; SILVESTRI, L.; ACITA, J.O. Utilización de *Paecilomyces lilacinus* para el control de *Nacobbus aberrans* (Nematoda, Nacobbidae) en campo. **Fitopatologia**, Buenos Aires, v.20, n.1, p.17-20, 1985.

STIRLING, G.R.; MANKAU, R. *Dactylella oviparasitica*, a new fungal parasite of *Meloidogyne* eggs. **Mycologia**, New York, v.70, p.774-783, 1978.

VILLANUEVA, L.M.; DAVIDE, R.G. Evaluation of several isolates of soil fungi for biological control of root-knot nematodes. **Phillipine Agriculturist**, Laguna, v.67, n.361-371, 1984.

WINDRICH, W.A. The influence of the nematophagous fungus R350 on the number of root-knots on cucumber. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEMATOLOGY, 1, Guelph, 1984. Abstracts. Guelph, 1984 p.108.