

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FORMULAÇÕES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ASSOCIADAS
AO CONTROLE QUÍMICO E MATÉRIA ORGÂNICA NO
MANEJO DOS NEMATOIDES DOS CITROS (*Tylenchulus*
semipenetrans E *Pratylenchus jaehni*)**

Paulo Roberto Pala Martinelli

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FORMULAÇÕES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ASSOCIADAS
AO CONTROLE QUÍMICO E MATÉRIA ORGÂNICA NO
MANEJO DOS NEMATOIDES DOS CITROS (*Tylenchulus*
semipenetrans E *Pratylenchus jaehni*)**

Paulo Roberto Pala Martinelli

Orientador: Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares

Co-Orientador: Prof. Dr. Jaime Maia dos Santos

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Outubro de 2011

M385f Martinelli, Paulo Roberto Pala
Formulações de fungos nematófagos associadas ao controle químico e matéria orgânica no manejo dos nematoides dos citros (*Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni*). / Paulo Roberto Pala Martinelli. -- Jaboticabal, 2011
xv, 73 f.: il; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011
Orientador: Pedro Luiz Martins Soares
Banca examinadora: Maria Amélia dos Santos, Mario Massayuki Inomoto, Rita de Cássia Panizzi, Júlio César Galli
Bibliografia

1. Controle biológico. 2. Aldicarbe. 3. Citrus. 4. Temik 150G. 5. Formulação de agentes biológicos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.937:634.31

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PAULO ROBERTO PALA MARTINELLI – Nascido em 22 de setembro de 1980, em Taquaritinga – SP. Iniciou-se os estudos em agricultura no “Colégio Técnico Agrícola “José Bonifácio” Câmpus da UNESP Jaboticabal-SP, onde obteve a formação de Técnico em Agropecuária, no ano de 1999. Graduiu-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – MG, em fevereiro de 2006. Foi bolsista de Iniciação Científica Pibic/CNPq, estagiou no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides (Bionema/UFV), onde desenvolveu vários trabalhos na área de controle biológico de fitonematoides. Em 2008, obteve o Título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal) pela FCAV/UNESP de Jaboticabal-SP e no mesmo ano ingressou no curso de doutorado, na mesma instituição, sendo bolsista de doutorado da FAPESP.

OFEREÇO

À Deus por ser a grande força do Universo que guia nossos caminhos.

“A imaginação é mais importante que o conhecimento.”

(Albert Einstein)

“Mentes criativas são conhecidas por sobreviverem a qualquer tipo de mau aprendizado”.

(Anna Freud)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar forças para superar todos os obstáculos da vida.

Ao meu orientador Prof. Pedro Luiz Martins Soares pela amizade e apoio em todas as fases deste trabalho.

Ao orientador que no final do trabalho virou co-orientador e amigo, Prof. Dr. Jaime Maia dos Santos, pelos ensinamentos e exemplo de profissional.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pela concessão da BoLa de Doutorado (Processo 2008/53055-9).

Aos funcionários do Laboratório de Nematologia André Maurício, Sandra, Valmir, Suelen e Júnior.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, pela oportunidade que me foi dada para a realização do curso.

Aos membros da banca de qualificação e defesa.

À todos os professores com quem tive o prazer de trocar conhecimentos.

Ao proprietário do Sítio das Antas, no Município de Itápolis, Sr. Ciniro Casoni e seus funcionários.

Ao administrador da Fazenda São Sebastião, Município de Monte Alto, Sr. João Baptista (Nenê).

Ao Sr. Noel funcionário da Fazenda São Bento, Município de Fernandópolis-SP.

Aos companheiros e ex-companheiros de república, Danilo (Poca), Rafael (Peludo), Thiago e Daniel.

Ao grande amigo Dr. Fábio Ramos Alves, que me incentivou a seguir a carreira de pesquisador e nematologista.

Ao prof. Dr. José Carlos Barbosa, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À minha namorada Flávia pelo amor e apoio incondicional Branca te amo!

Enfim, à todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, fica meu eterno agradecimento.

Muito Obrigado!!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
Referências Bibliográficas	7
CAPÍTULO 2 - ESTABELECIMENTO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS APLICADOS NO CAMPO PARA CONTROLE DE <i>Pratylenchus jaehni</i> EM CITROS.....	14
Resumo	14
Introdução.....	15
Material e Métodos	16
Resultados e Discussão	18
Conclusões.....	23
Referências Bibliográficas	23
CAPITULO 3 - DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE CINCO FUNGOS NEMATÓFAGOS APLICADOS SOB A COPA DE LARANJEIRAS 'PÊRA' PLANTADAS NO SENTIDO LESTE-OESTE.....	29
Resumo	29
Introdução.....	30
Material e Métodos	31
Resultados e Discussão	32
Conclusões.....	37
Referências Bibliográficas	37
CAPITULO 4 - CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>Pratylenchus jaehni</i> E <i>Tylenchulus semipenetrans</i> EM POMARES DE LARANJA 'PÊRA' COM FORMULAÇÕES CONTENDO FUNGOS NEMATÓFAGOS ASSOCIADAS À ALDICARBE	42
Resumo	42
Introdução.....	43
Material e Métodos	44

Resultados e Discussão	45
Conclusões	51
Referências Bibliográficas	53
CAPITULO 5 – APLICAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E FORMULAÇÃO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS NO MANEJO DE <i>Pratylenchus jaehni</i> E <i>Tylenchulus semipenetrans</i> EM POMAR DE CITROS	
Resumo	58
Introdução.....	59
Material e Métodos	60
Resultados e Discussão	61
Conclusões	68
Referências Bibliográficas	70

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
CAPÍTULO 2	14
1 Número médio de colônias de <i>Arthrobotrys musiformis</i> , <i>A. robusta</i> , <i>A. oligospora</i> , <i>Dactylella leptospora</i> e <i>Monacrosporium eudermatum</i> após a aplicação para o controle de <i>Pratylenchus jaehni</i> e <i>Tylenchulus semipenetrans</i> nas amostras de solo de pomar de laranjeira 'Pêra' enxertadas sobre limoeiro 'Cravo' no Município de Itápolis-SP, no período de setembro de 2008 a setembro de 2009, quantificadas pelo método de BARRON (1977) modificado por SANTOS (1991)	19
2 Número médio de <i>Pratylenchus jaehni</i> e <i>Tylenchulus semipenetrans</i> nas parcelas tratadas com a formulação dos fungos nematófagos e testemunha (sem tratamento) no solo e nas raízes coletadas, em pomar de laranjeira 'Pêra' enxertada sobre limoeiro cravo, no Município de Itápolis-SP, no período de setembro de 2008 a setembro de 2009	22
3 Análise química do solo do pomar de laranjeira 'Pêra' da Fazenda das Antas, Itápolis-SP, área experimental.....	23
CAPÍTULO 3	29
1 Distribuição espacial (norte, sul, leste e oeste) do número médio de colônias dos fungos nematófagos aplicados em pomar de laranjeira comercial em setembro de 2008, no Município de Itápolis-SP, 6 meses após a aplicação	35
2 Distribuição espacial (norte, sul, leste e oeste) do número médio de colônias dos fungos nematófagos aplicados em pomar de laranjeira comercial em setembro de 2008, no Município de Itápolis-SP, 9 meses após a aplicação	36
3 Análise química do solo da cultura de laranjeira variedade Pêra da Fazenda das Antas, Itápolis-SP, área experimental, 2008	37
CAPÍTULO 4	42
1 Médias das percentagens de controle em relação a análise prévia de <i>Pratylenchus jaehni</i> com uma formulação contendo cinco fungos nematófagos associadas com aldicarbe, aplicados em pomar de laranjeira 'Pêra' enxertada sobre limoeiro 'Cravo', no Município de Itápolis-SP, conduzidos entre setembro de 2008 a setembro de 2009	48

2 Médias das percentagens de controle em relação a análise prévia de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> com uma formulação contendo cinco fungos nematófagos associadas com aldicarbe, aplicados em pomar de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre limoeiro ‘Cravo’, no Município de Taquaritinga-SP, conduzidos entre setembro de 2008 a setembro de 2009	50
3 Coeficientes de correlação entre os números de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> e <i>Pratylenchus jaehni</i> coletados nas parcelas tratadas, no solo e nas raízes, sob a projeção da copa de plantas de laranjeira ‘Pêra’ e os fatores meteorológicos: precipitação pluviométrica (PREC.), umidade relativa (UR) e temperatura média (TMED), no período de setembro de 2008 a setembro de 2009, nos Municípios de Itápolis e Taquaritinga-SP	52
CAPÍTULO 5	58
1 Médias das percentagens de controle de <i>Pratylenchus jaehni</i> segundo ABBOTT (1925), após aplicação e reaplicação da formulação de fungos nematófagos com adição de esterco de curral e esterco de galinha em pomar de laranjeira ‘Pêra’ irrigado no Município de Fernandópolis-SP, conduzido no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011	65
2 Médias das percentagens de controle de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> segundo ABBOTT (1925), após aplicação e reaplicação da formulação de fungos nematófagos com adição de esterco de curral e esterco de galinha, em pomar de laranjeira ‘Pêra’ irrigado no Município de Fernandópolis-SP, conduzido no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011	67
3 Coeficientes de correlação entre os números de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> e <i>Pratylenchus jaehni</i> coletados nas parcelas tratadas, no solo e nas raízes, sob a projeção da copa de plantas de laranjeira ‘Pêra’ irrigada e os fatores meteorológicos: precipitação pluviométrica (PREC.), umidade relativa (UR) e temperatura média (TMED), no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011, no Município de Fernandópolis-SP	69

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
CAPÍTULO 2	14
1 Método do espalhamento de uma alíquota de 2 g de solo em ágar-água com nematoide isca <i>Panagrellus</i> sp.....	17
CAPÍTULO 3	29
1 Orientação da amostragem para o estudo da sobrevivência dos fungos nematófagos nas parcelas de acordo a face de exposição (norte, sul, leste e oeste) das plantas tratadas	32
CAPÍTULO 4	42
1 Médias mensais de precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa (%) e temperatura (°C), no período de setembro de 2008 a setembro de 2009 para os Municípios de Itápolis e Taquaritinga-SP, fornecidos pela estação meteorológica da FCAV/UNESP de Jaboticabal-SP, com aproximadamente 15 Km de Taquaritinga e 60 Km de Itápolis	49
CAPÍTULO 5	58
1 Médias mensais de precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa (%) e temperatura (°C), no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011 para o Município de Fernandópolis-SP, dados da estação meteorológica automática do INMET.....	68

FORMULAÇÕES DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ASSOCIADAS AO CONTROLE QUÍMICO E MATÉRIA ORGÂNICA NO MANEJO DOS NEMATOIDES DOS CITROS
(*Tylenchulus semipenetrans* E *Pratylenchus jaehni*)

RESUMO - Os nematoides dos citros causam perdas consideráveis à citricultura em todo o mundo. Em 1987, foram estimadas perdas de 14,2%. No Brasil, perdas associadas à *Tylenchulus semipenetrans* foram estimadas em R\$ 319 milhões para a safra de 1999/2000 no Estado de São Paulo. Para *Pratylenchus jaehni*, observou-se perdas de 30% na produção, de pomares de laranja no município de Itápolis-SP. O manejo dessas espécies de nematoides, em pomares infestados é feito, exclusivamente, com uso de aldicarbe (Temik® 150G), contudo o controle biológico pode tornar-se uma alternativa viável de manejo desses nematoides. Os ensaios foram conduzidos nos Municípios de Taquaritinga, Itápolis e Fernandópolis-SP, no período de setembro de 2008 a fevereiro de 2011. Os objetivos desse trabalho foram: avaliar a sobrevivência dos fungos nematófagos nas parcelas que foram tratadas, a campo, com uma formulação de cinco espécies desses agentes de biocontrole; avaliar a influência da adição de matéria orgânica de diferentes fontes para promover o estabelecimento e potencializar a ação dos fungos; estudar o controle químico com doses reduzidas de aldicarbe, associado aos fungos nematófagos no manejo dos nematoides dos citros; avaliar a distribuição espacial nos sentidos norte, sul, leste e oeste de cinco fungos nematófagos aplicados em pomar comercial de citros. A sobrevivência dos fungos nematófagos concluiu-se que as espécies de *Arthrobotrys* e *Monacrosporium* já estavam presentes na área e foram recuperadas até a avaliação de 9 meses após a aplicação. No experimento de distribuição geográfica dos fungos nematófagos concluiu-se não existe um padrão de distribuição sob a copa das plantas. Nos experimentos de associação da formulação dos fungos nematófagos com aldicarbe pode-se indicar a aplicação concomitantemente com o nematicida aldicarbe não afetando a sobrevivência dos micro-organismos no solo e produzindo uma interação positiva no controle dos nematoides dos citros *T. semipenetrans* e *P. jaehni*. Portanto, pode-se reduzir a dose de nematicida utilizada para o controle deste nematoides, assim reduzindo o custo de manejo do patógeno. A adição de esterco de galinha e curral tem efeito positivo na

aplicação concomitante a formulações de fungos nematófagos para o controle dos nematoides dos citros. O esterco de galinha demonstrou uma interação mais eficiente com a formulação dos fungos nematófagos na redução da população dos nematoides dos citros. E quando aplicado somente o esterco de galinha obteve-se reduções superiores ao esterco de curral.

Palavras-chave: Controle biológico; aldicarbe, formulação de agentes biológicos, Temik 150G, *Citrus*.

FORMULATIONS OF NEMATOPHAGOUS FUNGI ASSOCIATED WITH CHEMICAL CONTROL AND ORGANIC MATTER IN THE MANAGEMENT OF CITRUS NEMATODE (*Tylenchulus semipenetrans* and *Pratylenchus jaehni*)

ABSTRACT - The citrus nematodes cause considerable losses to the citrus industry worldwide. In 1987, estimated losses of 14.2%. In Brazil, losses associated with *Tylenchulus semipenetrans* were estimated at R\$ 319 million for the harvest of 1999/2000 in São Paulo. To *Pratylenchus jaehni*, there was loss of 30% in the production of orange orchards in the county of Itápolis-SP. The management of these species of nematodes in infested orchards is made exclusively with the use of aldicarb (Temik ® 150G), but biological control is emerging as a viable alternative for management of these nematodes. The objectives of this study were to evaluate the survival of nematophagous fungi on plots that were treated, the field, with a formulation of five species of biocontrol agents, to evaluate the influence of the addition of organic matter from different sources to promote the establishment and enhance action of fungi, to study the chemical control with reduced doses of aldicarb associated with nematophagous fungi the management of the citrus nematode; evaluate the spatial distribution in the directions north, south, east and west with applied to five nematophagous fungi in commercial citrus orchards. The survival of nematophagous fungi concluded that the species of *Arthrobotrys* and *Monacrosporium* were already present in the area and were recovered up to the evaluation of 9 months after application. In the experiment of geographical distribution of nematophagous fungi concluded there is no standard distribution under the tree canopy. In association experiments the formulation of the nematophagous fungi with aldicarb may indicate the application concurrently with the nematicide aldicarb did not affect the survival of microorganisms in the soil and producing a positive interaction in the control of citrus nematode *T. semipenetrans* and *P. jaehni*. Therefore, one can reduce the dose of nematicide used to control of nematodes, thus reducing the cost of handling the pathogen. The addition of chicken manure and corral has a positive effect on the concomitant application of the formulations of nematophagous fungi to control the citrus nematode. The chicken manure showed a more efficient interaction with the formulation

of the nematophagous fungi in reducing the population of the citrus nematode. And only when applied chicken manure was achieved reductions greater than the dairy manure.

Keywords: Biological control; aldicarbe, formulation of biological agents, Temik 150G, *Citrus*.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

As plantas cítricas fazem parte de um grande grupo de plantas do gênero *Citrus* e outros gêneros como (*Fortunella* Swingle e *Poncirus* Rafinesque) e alguns híbridos da família Rutaceae, representado, na maioria, por laranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). São originários principalmente das regiões subtropicais e tropicais do sul e sudeste da Ásia, incluindo áreas da Austrália e África (MATTOS JR. et al., 2005)

Dentre as laranjas-doces cultivadas no Brasil, ou seja, na sua grande maioria no Estado de São Paulo, a variedade Pêra é a principal, sendo responsável por 43% do total das laranjeiras existentes, quase 97 milhões de árvores em formação e produção (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2003).

A produção mundial de citros é de aproximadamente 102 milhões toneladas por ano, e é oriunda de 7,3 milhões hectares, superando a produção de frutas tropicais e subtropicais como banana, maçã, manga, pêra, pêssego e mamão. Os países com maior produção de laranjas são o Brasil e os Estados Unidos, que juntos representam cerca de 45% do total mundial (MATTOS JR. et al., 2005).

No Brasil, a produção de citros se concentra no Estado de São Paulo, onde encontram-se cerca de 85% da produção brasileira de laranjas, ou seja, 322,2 milhões de caixas de 40,8 kg na safra 2010/11 (FRANCISCO et al., 2011). Outros Estados como Bahia, Minas Gerais, Pará, Paraná e Rio Grande do Sul contribuem para o agronegócio dos citros com a produção, principalmente, de laranjas, tangerinas e lima ácida tahiti (MATTOS JR. et al., 2005).

O complexo do agronegócio citrícola brasileiro movimenta 9 bilhões de reais por ano, gerando cerca de 400 mil empregos diretos e indiretos (NEVES & JANK, 2006).

Segundo a Asociación Tucumana Del Citrus (ATCITRUS, 2011) o valor da produção nacional de laranja, em 2010, foi de R\$ 5,3 bilhões, concentrando 5,4% dos recursos financeiros gerados pela agricultura nacional, que somaram R\$ 98,3 bilhões no ano.

Segundo NEVES & BOTEON (1998), as indústrias de suco concentrado de laranja para exportação comercializam, anualmente, cerca de 85% da produção

paulista, e o Estado é responsável por 98% da produção total brasileira de suco concentrado congelado.

A cultura com toda a importância econômica e social que representa para o País, resente-se de vários problemas de natureza fitossanitária, onde se insere especialmente os nematoides *Tylenchulus semipenetrans* Cobb e *Pratylenchus jaehni* Inserra et al.

Os nematoides *T. semipenetrans* conhecido também como “o nematoide dos citros”, causador da doença “declínio lento dos citros” e *P. jaehni* chamado de “o nematoide das lesões radiculares dos citros”, são nematoides chave da citricultura no Brasil (SANTOS et al., 2005). Em outras regiões produtoras do mundo, pelo menos 10 espécies de nematoides são citadas como nematoides chaves da cultura (DUNCAN & COHN, 1990).

Entre as medidas de controle existentes, o controle biológico vem despertando interesse de muitos pesquisadores em todo o mundo (BARRON, 1977; MANI, 1988; WALTER & KAPLAN, 1990; SANTOS, 1991; GENÉ et al. 2005; SOARES, 2006; MARTINELLI & SANTOS, 2007abcd; MARTINELLI, 2008).

Dentre os agentes de controle biológico, podem ser citados fungos, bactérias, nematoides predadores, protozoários, ácaros, colêmbolas, tardígrados, entre outros. Entre os inimigos naturais mais estudados, os fungos nematófagos representavam cerca de 76% das pesquisas (CARNEIRO, 1992) e correspondem a 75% dos agentes do controle biológico de nematoides encontrados nos solos agricultáveis do mundo (JATALA, 1986).

O primeiro fungo nematófago isolado e descrito foi *Arthrobotrys oligospora* Fresenius, em 1852 (GRAY, 1988). São conhecidas centenas de espécies que têm a habilidade de usar nematoides como alimento (FERRAZ et al., 2001).

O aumento do interesse pelo controle biológico de nematoides ocorreu após a demonstração de que algumas espécies de fungos endoparasitos impediram o aumento da população de diferentes espécies de nematoides (JATALA et al., 1981; KERRY et al., 1982). No Brasil, os primeiros relatos envolvendo o controle biológico de nematoides foram feitos por ALCANTARA & AZEVEDO (1981), isolando fungos a partir de nematoides infectados.

Os fungos nematófagos podem ser classificados, de acordo com as estratégias utilizadas para capturar os nematoides, em endoparasitos e predadores. Os endoparasitos infectam os nematoides, penetrando pelas aberturas naturais dos seus corpos. Os predadores capturam os nematoides utilizando hifas modificadas na forma de armadilhas. Os oportunistas ou ovíparas parasitam ovos e cistos e, por último, aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematoides (MORGAN-JONES & RODRIGUEZ-KÁBANA, 1987; JANSSON et al., 1997). Os fungos nematófagos predadores são os mais promissores, destacando-se a facilidade de estabelecerem-se no solo e serem facilmente cultivados em meio de cultura, despertando, com isso, o interesse de vários pesquisadores em todo o mundo (GRAY, 1988).

Os principais gêneros de fungos predadores conhecidos são: *Arthrobotrys* Corda, *Dactylaria* Saccardo, *Dactylella* Grove e *Monacrosporium* Oudemans, conforme menção de MANKAU (1980). As espécies de *Arthrobotrys* são consideradas de maior importância, inclusive são intensamente estudadas em relação a sua ecologia e patofisiologia, sendo, freqüentemente, incluídos nas pesquisas de manejo de nematoides (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996). Esses fungos produzem estruturas especializadas para a captura dos nematoides, ao longo das hifas, genericamente referidas como armadilhas. Essas armadilhas podem ser adesivas ou não (NORDBRING-HERTZ, 1972) e aprisionam os nematoides. Após a captura, independentemente da armadilha utilizada, as hifas penetram na cutícula, colonizam e consomem o conteúdo do corpo dos nematoides. Em seguida, emitem para o meio externo as suas estruturas vegetativas e reprodutivas (BARRON, 1977; GRAY, 1987). Essas estruturas podem ser formadas espontaneamente (BLACKBURN & HAYES, 1966) ou serem produzidas em resposta a estímulos diversos, tais como: substâncias liberadas no meio pelos nematoides, escassez de água e/ou nutrientes, motilidade, uma vez que, quanto maior for a motilidade dos nematoides, maior o estímulo para o fungo produzir armadilhas, e o chamado ritmo endógeno, onde as hifas vegetativas, ao crescerem, são ritmicamente predispostas para a produção dessas armadilhas (LYSEK & NORDBRING-HERTZ, 1981).

GASPARD & MANKAU (1986), estudando fungos nematófagos associados a *T. semipenetrans* em pomares de citros, na Califórnia, isolaram fungos em 43 das 58

amostras analisadas, sendo que as principais espécies encontradas foram de *Arthrobotrys*.

DAVID & DAVID (1990) observaram, em um pomar de citros, que na população de *T. semipenetrans*, foram detectados vários antagonistas. Onze espécies de microrganismos, além da bactéria *Pasteuria* spp., foram observadas atacando estádios vermiformes de *T. semipenetrans*. MAAFI (1993) detectou juvenis e machos de *T. semipenetrans* infectados com *Pasteuria* sp. na razão de 2-54%, em 87 amostras de solos de pomares com citros no Norte do Irã. FATTAH et al. (1989) também relataram a infecção de *T. semipenetrans* por *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr em amostras de solo e raízes de árvores de citros.

WALTER & KAPLAN (1990), estudando os antagonistas dos nematoides dos citros, na Flórida, isolaram 24 microrganismos antagonistas aos nematoides, sendo que 12 espécies atacavam *T. semipenetrans*. Também isolaram 17 espécies de fungos nematófagos em 27 pomares de citros amostrados.

GENÉ et al. (2005), amostrando pomares de citros da região espongiosa da Catalunha, observaram que, em 69% dos pomares amostrados havia fungos nematófagos associados a *T. semipenetrans* sendo que as espécies predominantes eram de *Arthrobotrys*.

MARTINELLI & SANTOS (2007ad), em estudo de detecção e isolamento de fungos nematófagos associados a *T. semipenetrans*, no Estado de São Paulo, isolaram 26 fungos, dentre os quais, 14 eram parasitas desse nematoide. Em estudo de patogenicidade *in vitro* de *T. semipenetrans* por *Arthrobotrys musiformis* Drechsler, *A. robusta* Dudd, *A. conoides* Drechsler e *A. oligospora* Fresenius, demonstraram que as quatro espécies tinham potencial como agentes do controle biológico dessa praga.

MARTINELLI & SANTOS (2007bc), realizando teste *in vitro* com três espécies de *Arthrobotrys* no controle de *P. jaehni*, concluíram que as três espécies foram efetivas. Também, testando *Monacrosporium* sp. e *Dactylella* sp., *in vitro*, demonstraram o potencial dessas duas espécies no controle biológico de *P. jaehni*.

MARTINELLI et al. (2009) em levantamento da microbiota de fungos nematófagos da rizosfera de plantas infectadas por *T. semipenetrans* e *P. jaehni* no estado de São Paulo, encontraram em 68,4% dos pomares citros a presença desses

fungos. Um total de 92,8% dos fungos isolados foram patogênicos à *T. semipenetrans* e 82,1% dos isolados foram à *P. jaehni*.

MARTINELLI et al. (2009) testaram uma formulação dos isolados mais promissores: *Monacrosporium eudermatum* Drechsler, *Dactylella leptospora* Grove, *A. musiformis*, *A. conoides* e *Paecilomyces lilacinus* Thorn, em pomares infestados pelos nematoides dos citros. Foram testadas as doses de 0; 1; 2; 4 ou 6 L da formulação por planta e, também, aldicarbe como comparativo. Os resultados evidenciaram que as doses de 1 e 2 L da formulação foram as mais promissoras, com reduções de aproximadamente 90% da população dos nematoides dos citros. Os dados dos autores enfatizam os dados obtidos por CORBANI (2002) que, em estudo do controle biológico a campo de *T. semipenetrans* com fungos nematófagos, observou que na dose de 1 kg de quirera de arroz colonizada pelos fungos nematófagos, aplicados isoladamente, houve diferença estatística significativa na população do nematoide nas raízes entre a dose e a testemunha, mas não entre os tratamentos com os fungos.

REDDY et al. (1991), em estudos utilizando torta de mamona (*Ricinus communis* L.), torta de karanj (*Pongamia pinnata* (L.) Pierre e torta de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) a 20 g por planta e 8 g de sementes de arroz colonizadas por *P. lilacinus*, por planta, observaram a máxima redução na população de *T. semipenetrans* na rizosfera de plantas cítricas com a combinação de neem + *P. lilacinus*. A menor redução na população do nematoide, nas raízes, foi obtida com torta de mamona + *P. lilacinus*.

REDDY et al. (1996a), utilizando torta de mamona de karanj e torta de neem, nas doses de 20 ou 40 g por vaso, contendo 2 kg de solo, com 2 ou 4 g de sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.), colonizadas por *Trichoderma harzianum* Rifai, observaram que a torta de mamona + *T. harzianum*, na dose de 20 g + 2 g, respectivamente, provocaram a máxima redução na população de *T. semipenetrans*.

REDDY et al. (1996b) obtiveram a máxima redução da população de *T. semipenetrans*, tanto nas raízes como no solo, com 4 g de uma formulação de *P. lilacinus* e 30 g de carbofurano por planta.

Segundo JATALA (1986), os resultados da aplicação de *P. lilacinus* a campo, em algumas fazendas no Peru, evidenciaram a eficácia desse fungo no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *T. semipenetrans*. Com efeito,

REDDY et al. (1996abc) testaram diferentes fungos em combinação com alguns tipos de torta e observaram que *T. harzianum*, *Verticillium chlamydosporium* Goddard e *V. lecanii* Zimmermann exerceram apreciável nível de controle de *T. semipenetrans*, tanto no solo quanto nas raízes, e propiciaram aumento no crescimento de mudas de citros.

OSMAN & SALEM (1995) testaram uma formulação denominada Sincocin AGTM de um bionemático para o controle de *T. semipenetrans* e verificaram redução na população do nematoide no solo e nas raízes de plantas cítricas, aumento no crescimento das laranjeiras e na população de ácaros do solo, principalmente os mesostigmatídeos.

FATTAH et al. (1989), estudando os fungos associados com fêmeas maduras de *T. semipenetrans*, em Bagdá, relataram a presença de um grande número de espécies. Alguns desses fungos exibiram atividade quitinolítica quando em meio ágar contendo 0,2% de quitina coloidal. Os autores mencionaram que tais fungos poderiam parasitar e, conseqüentemente, poderiam ser considerados agentes potenciais do controle biológico desse nematoide.

SPIEGEL et al. (1989) utilizaram um produto à base de quitina, denominado Cland San (CLA), obtido a partir de algas marinhas, e verificaram uma redução de 50 a 90% da população de *T. semipenetrans* em duas variedades de porta-enxertos de citros.

Em alguns países como Austrália, Colômbia, Alemanha e África do Sul o controle biológico de nematoides dos citros já é uma prática comum, com produtos comercializados a base de *P. lilacinus* (VERDEJO-LUCAS & MACKERY, 2004). Um outro produto de origem biológica composto por *Myrothecium verrucaria* Alb Et Schw, DiTera, foi desenvolvido como uma alternativa biológica compatível com controle químico. Atualmente, DiTera tem registros nos EUA, Chile e Panamá. O controle biológico pode ser útil em regiões onde o controle químico não está disponível ou a preços inacessíveis, e em pomares sob manejo orgânico. Portanto, o controle biológico por meio do emprego de microrganismos é uma alternativa promissora para o manejo de nematoides em citros

Os objetivos do trabalho foram: 1) Avaliar a persistência e a distribuição espacial dos fungos nematófagos nas parcelas tratadas, a campo, com uma formulação mista de

cinco espécies desses fungos; 2) Avaliar a influência da adição de matéria orgânica (esterco de curral e de granja) para promover o estabelecimento e potencializar a ação dos fungos; 3) Estudar o controle químico com doses reduzidas de aldicarbe, associado aos fungos nematófagos no manejo dos nematoides dos citros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCANTARA, V. S. B.; AZEVEDO, J. L. de. Isolamento e seleção de fungos predadores de nematoides. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 132-146, 1981.

ATCITRUS. **Setor citricultor aposta em maior produção em 2011**. 2011. Disponível em: <http://www.atcitrus.com/portugues/noticias.asp?seccion=principales&id=359>. Consultado em 06 de junho de 2011, às 15:20.

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

BLACKBURN, F.; HAYES, W. A. Studies on the nutrition of *Arthrobotrys oligospora* Fres. and *A. robusta* Dudd. I. The saprophytic phase. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 58, p. 43-50, 1966.

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

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 2002. 44f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, Jaboticabal, 2002.

DAVID, E. W.; DAVID, T. K. Antagonists of plant-parasitic nematodes in Florida citrus. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 22, n. 1, p. 567-73, 1990.

DUNCAN, L. W.; COHN, E. Nematode parasites of citrus. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.) **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. Wallingford: CAB International, 1990. p. 321-346.

FATTAH, F. A.; SALEH, H. M.; ABOUD, H. M. Parasitism of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by *Pasteuria penetrans* in Iraq. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 21, n. 3, p. 431-433, 1989.

FERRAZ, S.; DIAS, C. R.; FREITAS, L. G. de Controle de nematoides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. **Manejo Integrado Fitossanidade: Cultivo Protegido, Pivô Central e Plantio Direto**. Viçosa: UFV, 2001, p. 1-53.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual 2003**: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo, 2003, p. 228-264.

FRANCISCO, V. L. F. S.; CAMARGO, F. P.; CASER, D. V. Evolução da Produção de Laranja 2009 – 2011 no Estado de São Paulo. **Instituto de Economia Agrícola**. 2011. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=12052> Consultado em 15 de julho de 2011, às 10:30.

GASPARD, J. T.; MANKAU, R. Nematophagous fungi associated with *Tylenchulus semipenetrans* and the citrus rhizosphere. **Nematologica**, Prince, v. 32, n. 3, p. 359-362, 1986.

GENÉ, J.; VERDEJO-LUCAS, S.; STCHIGEL, A. M.; SORRIBAS, F. J.; GUARRO, J. Microbial parasites associated with *Tylenchulus semipenetrans* in citrus orchards of Catalonia, Spain. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 15, n. 7, p. 721 – 731, 2005.

GRAY, N. F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: POINAIR Jr., G. O.; JASON, H. B. (eds.). **Diseases of nematodes**, v.2. Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 3-38.

GRAY, N. F. Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. **Biological Review**, Cambridge, v. 62, p. 245-304, 1987.

JANSSON, H. B.; TUNLID, A.; NORDBRING-HERTZ, B. Biological control: Nematodes. In: ANKE, T. Ed. **Fungal Biotechnology**. Weinheim: Chapman and Hall, 1997. p. 38-50.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematode. **Annual Review of Phytopathology**, Stanford, v. 24, n. 1, p. 453-489, 1986.

JATALA, P.; SALAS, R.; BOCANGEL, M. Multiple application and long-term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field condition. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v. 13, p. 445, 1981.

KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal cyst-nematode, *Heterodera avenae* under continuous cereal, 1975-78. II Fungal parasitism of nematode female and eggs. **Annual Applied Biology**, London, v. 10, p. 489-499, 1982.

LYSEK, G.; NORDBRING-HERTZ, B. An endogenous rhythm of trap formation in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Planta**, Bonn, v. 152, p. 50-53, 1981.

MAAFI, Z. T. *Pasteuria* sp. as a parasite of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) in the north of Iran. **Iranian Journal of Plant Pathology**, Evin, v. 29, n. 1, p. 39, 1993.

MANI, A. studies on the bacterial parasite *Pasteuria penetrans*. I. Spore viability after storage. II. Culture on citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans*. **International Nematology Network Newsletter**, Raleigh, v. 5, n. 1, p. 24-25, 1988.

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

MARTINELLI, P. R. P. **Estudos do controle biológico dos nematoides dos citros no Estado de São Paulo**. 2008, 106 f. (Dissertação de Mestrado), FCAV/UNESP, Jaboticabal, 2008.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M.; SANT'ANNA, S. J.; SOARES, P. L. M. Fungos Nematófagos em Pomares de Citros nos Estados de São Paulo e Goiás. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 123-131, 2009.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. Detecção e isolamento de fungos nematófagos de *Tylenchulus semipenetrans* em amostras de solo de pomares de citros do estado de São Paulo. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 30, 2007, Jaboticabal, **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, supl., p. 23, 2007a.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. Patogenicidade in vitro de espécies de *Arthobotrys* a *Pratylenchus jaehni*. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 30, 2007, Jaboticabal, **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, supl., p. 23, 2007b.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. Patogenicidade in vitro de *Monacrosporium* sp. e *Dactylella* sp. a *Pratylenchus jaehni*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia, **Resumos...** Goiânia: SBN, p. 53, 2007c.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. Patogenicidade in vitro de espécies de *Arthobotrys* a *Tylenchulus semipenetrans*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia, **Resumos...** Goiânia: SBN, p.54, 2007d.

MATTOS JR, D.; DE NEGRI, J. D. FIGUEIREDO, J. O.; POMPEU JR, J. **Citros: principais informações e recomendações de cultivo**. 2005. Disponível em:

<<http://www.iac.sp.gov.br/tecnologias/citros/citros.htm>>. Consultado em 06 de junho de 2011, às 16:34.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KABANA, R. Fungal biocontrol for the management of nematode. *In*: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (eds.). **Vistas on Nematology**. DeLeon Springs: Society of Nematologists, 1987. p. 94-99.

NEVES, E. M.; BOTEON, M. Impactos alocativos e distributivos na citricultura. **Preços Agrícolas**, Piracicaba, n. 136, p. 3-6, 1998.

NEVES, M. F.; JANK, M. S. **Perspectiva da cadeia produtiva da laranja no Brasil: Agenda 2015. 2006. Disponível em:** <http://www.fundace.org.br/arquivos_diversos/agenda_estrategica/Agenda_citrus_2015_PENSAICONE.pdf>. Consultado em 06 de junho de 2011, às 17:01.

NORDBRING-HERTZ, B. Scanning electron microscopy of the nematode-trapping organs in *Arthrobotrys oligospora*. **Physiologia Plantarum**, Frederiksberg, v. 26, n. 1, p. 279-284, 1972.

OSMAN, G. Y.; SALEM, F. M. Bio-efficacy of sinconcin AGTM to control *Tylenchulus semipenetrans* (Tylenchida, Nematoda) in citrus orchard. **Anzeiger fur Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz**, Oxford, v. 68, n. 1, p. 179-181, 1995.

REDDY, P. P.; KHAN, R. M.; RAO, M. S. Integrated management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using oil-cake and *Paecilomyces lilacinus*. **Afro Asian Journal of Nematology**, Herts, v. 1, n. 1, p. 221-222, 1991.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Integrated management of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* using pesticides and parasitic fungus, *Paecilomyces lilacinus*. **Pest Management in Horticultural Ecosystemsn**, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 61-63, 1996a.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Management of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by integration of *Trichoderma harzianum* with oil cakes. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 24, n. 1, p. 265-267, 1996b.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Management of the citrus nematode on acid lime by integration of parasitic fungi and oil cakes. **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 15-18, 1996c.

SANTOS, M. A. **Detecção, isolamento e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos brasileiros**. 1991. 97f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

SANTOS, J. M.; CAMPOS, A. S.; AGUILAR-VILDOSO, C. I. Nematóides dos citros. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. (Eds.). **Citros**. Cordeirópolis: Instituto Agrônomo de Campinas, 2005. p. 607-625.

SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. **Bioresource Technology**, College Station, v. 58, p. 229-239, 1996.

SOARES, P. L. M. **Estudos do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos**. 2006, 217f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

SPIEGEL, Y.; COHN, E.; CHET, I. Use of chitin for controlling *Heterodera avenae* and *Tylenchulus semipenetrans*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 21, n. 1, p. 419-422, 1989.

VERDEJO-LUCAS, S.; MCKENRY, M.V. Management of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v. 36, n. 4, p. 424-432. 2004.

WALTER, D. E.; KAPLAN, D. T. Antagonists of plant-parasitic nematodes in Florida citrus. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 22, p. 567-573, 1990.

CAPÍTULO 2 – ESTABELECIMENTO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS APLICADOS NO CAMPO PARA O CONTROLE DE *Pratylenchus jaehni* E *Tylenchulus semipenetrans* EM CITROS

RESUMO

O monitoramento do estabelecimento de fungos nematófagos se torna necessária para estabelecer períodos de reaplicação de formulações de fungos nematófagos para controle dos nematoides dos citros (*P. jaehni* e *Tylenchulus semipenetrans*) a campo. Foram monitoradas a sobrevivência dos fungos: *Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum* nas parcelas tratadas com 1; 2; 4; 6 L da formulação dos fungos/planta ou testemunha sem aplicação, durante o período de 12 meses, sendo a primeira avaliação 6 meses após a aplicação e as demais com intervalos de três meses após a primeira avaliação. O experimento foi conduzido no Município de Itápolis-SP no período de setembro de 2008 a setembro de 2009. O fungo *D. leptospora* foi encontrado somente na avaliação de 6 meses após a aplicação dos tratamentos, indicando um tempo de sobrevivência curto no solo. Contudo, os isolados *A. robusta*, *A. musiformis* e *A. oligospora* foram recuperados em todas as avaliações e principalmente nas parcelas tratadas com as maiores doses da formulação e na testemunha. *Monacrosporium eudermatum* foi recuperado em todos os períodos avaliados e inclusive na avaliação da parcela testemunha nove meses após a aplicação. O fato da presença das espécies de *Arthrobotrys* e *M. eudermatum* nas parcelas testemunhas provavelmente indicam que já eram espécies nativas desse pomar.

Palavras-chave: nematoide das lesões radiculares, controle biológico, persistência.

INTRODUÇÃO

Os nematoides causadores de danos a cultura dos citros no Brasil são *Pratylenchus jaehni* e *Tylenchulus semipenetrans*, responsáveis por perdas médias anuais de 14,2 % da produção mundial (SASSER & FRECKMAN, 1987).

Atualmente, entre os métodos mais utilizados para o manejo desses nematoides, podem ser citados: o uso de nematicidas, portaenxertos resistentes e rotação de culturas. No caso da aplicação de nematicidas, alguns têm sido retirados do mercado devido aos efeitos nocivos ao ecossistema, à persistência no solo e à contaminação do lençol freático (RODRIGUES et al., 2003). Quanto às fontes de resistência, portaenxertos como *Poncirus trifoliata* Raf. e Citrange 'Troyer' (*P. trifoliata* x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck) são resistentes a ambas espécies dos nematoides dos citros (CALZAVARA & SANTOS, 2008).

O controle biológico surge como uma nova alternativa para o manejo dos nematoides dos citros, no entanto, já foram relatados mais de 200 organismos considerados inimigos naturais dos fitonematoides, como fungos, bactérias, nematoides predadores, tardígrados, colêmbolas e ácaros (KERRY, 1990; POINAR JUNIOR & JANSSON, 1988ab), cujo potencial pode ser explorado no sentido de alcançar resultados mais consistentes e promissores. No Brasil, a ocorrência de fungos predadores de nematoides tem sido constatada por diversos autores (FERRAZ et al., 1992; MAIA et al., 1993; RIBEIRO et al., 1999a; SANTOS, 1991; MARTINELLI et al., 2009). A habilidade dos fungos nematófagos em colonizar a rizosfera tem sido apontada como uma característica importante no biocontrole de nematoides (MAIA et al., 2001). Resultados encontrados por DALLA-PRIA (1996), DIAS (1992), LIMA (1996), RIBEIRO et al. (1999b), SANTOS (1991) e MARTINELLI (2008) indicam que fungos nematófagos se apresentam-se distribuídos em vários estados do Brasil, independentemente do clima e do tipo de solo, constituindo-se numa característica favorável a sua utilização no controle de fitonematoides.

Segundo MANKAU (1980), os fungos nematófagos são organismos cosmopolitas e sobrevivem em todo o tipo de ambiente e solo, ciclando a matéria orgânica presente no solo e quando há disponibilidade de nematoides que não estejam protegidos no

interior das raízes das plantas ocorre a predação. Ainda o autor discute que a distribuição dos fungos nematófagos no solo vai depender muito do método de isolamento que é utilizado para identificação desses organismos, pois as metodologias utilizadas não são capazes de identificar todas as espécies presentes no solo, devido a alguns desses agentes serem parasitos obrigatórios e não esporularem em meio de cultura (MANKAU, 1980; BARRON, 1977).

Contudo, o monitoramento da persistência de fungos nematófagos se torna necessária para estabelecer períodos de reaplicação de formulações de fungos nematófagos para controle dos nematoides. O objetivo desse trabalho foi monitorar a estabelecimento de cinco fungos nematófagos aplicados para o controle biológico de *P. jaehni* e *T. semipenetrans* a campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Sítio das Antas, no Município de Itápolis-SP, localizado em latitude -21,43° S e longitude de -48,73° O em pomar de laranja 'Pêra' (*C. sinensis*), enxertada sobre limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), com 25 anos de idade, infectada por *P. jaehni* e *T. semipenetrans*, durante setembro de 2008 a setembro de 2009. Foram marcadas parcelas contendo cinco plantas no espaçamento de 7 x 5 m. Os tratamentos adotados foram os seguintes: 1; 2; 4; 6 L da formulação dos fungos/planta ou testemunha sem aplicação. Foram adotadas quatro repetições em delineamento de blocos ao acaso (DBC).

Os fungos *Arthrobotrys robusta* Dudd, *A. oligospora* Fresenius, *A. musiformis* Drechsler, *Dactylella leptospora* Grove e *Monacrosporium eudermatum* Dreschsler foram formulados em bagaço de cana e farelo de arroz, conforme proposto por SOARES et al. (2005) e MARTINELLI (2008). Os fungos, individualmente, foram inoculados através de uma porção de meios de cultura colonizados por cada espécie de fungo no substrato e incubados à temperatura ambiente, no escuro, por 20 dias. Após

completa colonização do substrato, partes iguais de material colonizado pelos diferentes fungos foram misturadas para posterior aplicação.

O material correspondente a cada tratamento foi aplicado sob a projeção da copa das árvores e levemente incorporado ao solo com auxílio de um rastelo.

Amostras de solo foram coletadas nas três plantas centrais de cada parcela formando uma amostra composta por três subamostras deixando as duas plantas das extremidades como bordadura. Cada amostra composta foi plaqueada em meio ágar-água a 2% (Figura 1), segundo metodologia de BARRON (1977), modificada por SANTOS (1991), adicionando-se *Panagrellus* sp L. como isca. Foram adotadas 6 repetições para cada amostra composta de cada parcela, ou seja 6 placas para cada amostra composta. As placas de Petri contendo as amostras de solo foram incubadas em BOD a $25 \pm 1^\circ$ C, no escuro e as observações foram realizadas após 2 dias de incubação, diariamente, durante uma semana. Após esse período, as observações foram semanais, durante 2 meses. As placas foram divididas em 4 quadrantes para facilitar as avaliações. Para a identificação das espécies de isolados dos fungos foram utilizadas as chaves de identificação propostas por COOKE & GODFREY (1964), BARRON (1972) e RUBNER (1996). Foram contadas colônias de cada fungo nematófago encontrado e os dados foram submetidos a análise de variância, e quando significativo as médias foram testadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.



Figura 1: Método do espalhamento de uma alíquota de 2 g de solo em ágar-água com nematoide isca *Panagrellus* sp.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os dados do monitoramento dos fungos nematófagos (*A. musiformis*, *A. robusta*, *A. oligospora*, *D. leptospora* e *M. eudermatum*) aplicados para o controle de *P. jaehni* em pomar de laranja 'Pêra' enxertada sobre limoeiro 'Cravo', no Município de Itápolis - SP em 2008. As espécies mais frequentes encontradas foram *A. oligospora*, *A. musiformis* e *A. robusta* o mesmo fato foi observado por MARTINELLI et al. (2009), em estudos de detecção de fungos nematófagos em pomares de citros do Estado de São Paulo. As espécies predominantes encontradas no presente estudo, também foram encontradas em pomares da Catalunha (GENÉ et al., 2005) e em pomares de citros na Flórida (WALTER & KAPLAN, 1990).

Na Califórnia, as espécies de *Arthrobotrys* também predominaram na rizosfera de pomares de citros (GASPARD & MANKAU, 1986).

Na Tabela 1 observa-se que *A. oligospora* nas avaliações de 6 e 9 meses diferiu estatisticamente nas áreas tratadas com os fungos nematófagos em relação a testemunha (não tratada). Principalmente nas maiores doses onde foi encontrado o maior número de colônias fúngicas em relação a testemunha.

Segundo GRAY (1987), a maioria das espécies de fungos nematófagos é distribuída amplamente, existindo poucas espécies restritas geograficamente. Contudo, não foi encontrada nenhuma relação entre ocorrência, origem e distribuição das espécies isoladas *A. oligospora* variedade *oligospora* Fresenius, *A. musiformis*, *A. robusta*, *A. conoides* e *A. oviformis* Soprunov, *A. superba* Corda, *A. oligospora* variedade *microspora* Soprunov, *A. brochopaga* Drechsler e *Arthrobotrys* spp. de diferentes localidades brasileiras e de diferentes culturas (OLIVEIRA et al., 2002).

Dactylella leptospora foi encontrada somente na avaliação de 6 meses após a aplicação, nas parcelas tratadas com 2 L da formulação dos fungos nematófagos, não tendo sido encontrado em nenhum dos outros tratamentos e períodos avaliados. Este fato pode ser explicado por um fenômeno de parasitismo onde os fungos nematófagos são dependentes da densidade populacional do nematoide (JAFFEE & McINNIS, 1991). De fato, na avaliação de 6 meses na dose de 2 L, a densidade da população do

nematoide era a maior entre as demais avaliações (Tabela 2). Em um experimento detalhado JAFFEE & McINNES (1991) concluíram que a percentagem de nematoides parasitados por fungos nematófagos tinha correlação com sua densidade no solo em pomares de pêsego.

Tabela 1: Número médio de colônias de *Arthrobotrys musiformis*, *A. robusta*, *A. oligospora*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum* após a aplicação para o controle de *Pratylenchus jaehni* e *Tylenchulus semipenetrans* nas amostras de solo de pomar de laranja 'Pêra' enxertadas sobre limoeiro 'Cravo' no Município de Itápolis-SP, no período de setembro de 2008 a setembro de 2009, quantificadas pelo método de BARRON (1977) modificado por SANTOS (1991).

Tratamentos	Nº médio de colônias de fungos nematófagos recuperados 6 meses após a aplicação das formulações para o controle de <i>Pratylenchus jaehni</i> ¹				
	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>
Testemunha (Dose Zero)	3,83	0,00	1,16 b	0,00	0,00
1 Litro da Formulação	1,66	0,00	3,66 a	0,00	0,33
2 Litros da Formulação	3,16	0,50	2,16 b	0,17	0,00
4 Litros da Formulação	2,33	0,00	1,13 b	0,00	0,50
6 Litros da Formulação	2,50	0,16	3,33 a	0,00	0,00
Teste F (Tratamento)	2,72 ^{ns}	1,63 ^{ns}	7,10**	1,00 ^{ns}	1,72 ^{ns}
CV %	9,68	4,10	7,57	1,82	4,32
Espécies de fungos recuperados 9 meses após a aplicação das formulações para o controle de <i>Pratylenchus jaehni</i>					
Tratamentos	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>
Testemunha (Dose Zero)	0,00 b	0,00	0,00 b	-	0,00
1 Litro da Formulação	0,16 b	0,16	0,00 b	-	0,00
2 Litros da Formulação	0,50 b	0,33	2,00 a	-	0,33
4 Litros da Formulação	0,33 b	0,00	0,83 ab	-	0,00
6 Litros da Formulação	2,16 a	0,00	1,50 ab	-	0,33
Teste F (Tratamento)	5,12**	0,80 ^{ns}	3,29*	-	1,07 ^{ns}
CV %	8,92	4,04	11,09	-	4,26
Espécies de fungos recuperados 12 meses após a aplicação das formulações para o controle de <i>Pratylenchus jaehni</i>					
Tratamentos	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>
Testemunha (Dose Zero)	2,16 a	0,33 b	2,00	-	0,50
1 Litro da Formulação	2,00 a	0,00 b	3,16	-	0,00
2 Litros da Formulação	0,00 b	0,00 b	2,66	-	0,33
4 Litros da Formulação	2,00 a	2,66 a	2,66	-	0,00
6 Litros da Formulação	0,83 ab	0,33 b	1,16	-	0,50
Teste F (Tratamento)	2,82*	23,95**	1,18 ^{ns}	-	1,25 ^{ns}
CV %	12,11	5,30	10,77	-	4,66

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. ¹ Dados originais transformados em X+10 para análise de variância. ^{ns} Não significativo; * Significativo a 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade.

Em um experimento de laboratório, a percentagem de parasitismo foi aumentada para quase 100%, quando uma elevada densidade do nematoide foi mantida no solo, mas diminuiu para quase 0% em baixas densidades (JAFFEE, 1992).

Monacrosporium eudermatum foi encontrado em algumas das parcelas tratadas de todas as avaliações e na testemunha, na avaliação de 12 meses após a aplicação. Esse fato sugere que essa espécie de fungo nematófago estava presente naturalmente nessa área (Tabela 1), pois em levantamento feito por MARTINELLI (2008) o autor encontrou *M. eudermatum* em 2,63% dos pomares amostrados no estado de São Paulo.

Observando-se a Tabela 2, é evidente uma tendência de aumento da população de *P. jaehni* ao longo das avaliações, o que de fato se confirma com uma menor densidade de fungos nematófagos observados na Tabela 1, na última avaliação. Contudo, temos uma população menor de *P. jaehni* nas parcelas tratadas com a formulação de fungos nematófagos diferindo estatisticamente da testemunha na avaliação de 9 meses após a aplicação dos tratamentos, e não diferindo da testemunha na avaliação de 12 meses após a aplicação.

Para *T. semipenetrans* observa-se uma tendência de redução da população nas três avaliações realizadas após a aplicação dos tratamentos e aumento da população no tratamento testemunha. Todavia, a análise de variância não evidenciou diferença estatística significativa a 5 % de probabilidade entre os tratamentos.

Os fatores do ambiente influenciaram fortemente a sobrevivência e a atividade dos fungos nematófagos no solo. No entanto, pouco se sabe sobre o ambiente afetando a abundância e a atividade desses fungos (DACKMAN et al., 1992). Os fungos *Hirsutella minnesotensis* Chen et al. e *H. rhossiliensis* Minter & Brady são importantes parasitas de juvenis de segundo estágio (J2) de *Heterodera glycines* Ichinohe e têm mostrado grande potencial como agentes de biocontrole deste nematoide e de outras espécies. O parasitismo de nematoides por *H. rhossiliensis* depende de vários fatores, tais como densidade de conídios, a distância entre o nematoide e o hospedeiro, a umidade do solo e o tamanho das partículas do solo (JAFFEE et al., 1990; TIMPER et al., 1991; TEDFORD et al., 1992). A distância percorrida pelos nematoides determina suas chances de encontrar com os inimigos

naturais. Contudo, a circulação de água no solo também dissemina maior quantidade de esporos fúngicos (CHEN & DICKSON, 2004).

Na Tabela 3 estão os dados da análise química do solo que nos mostra ser um solo levemente ácido com pH 5,9 o que favorece o desenvolvimento de espécies fúngicas no solo e a quantidade de matéria orgânica de 16 g/dm³ que é considerada um teor médio favorecendo a sobrevivência de fungos que possuem fases saprofíticas no solo (CARDOSO, 2007). De acordo com GRAY (1985), os fatores que influem na distribuição dos fungos nematófagos são o conteúdo de matéria orgânica e de umidade, o pH do solo e os fatores edáficos. Espécies do gênero *Arthrobotrys* têm sido encontradas em solos com alto conteúdo de matéria orgânica, em substratos para cultivo de cogumelos e em solos próximos às excreções de gado estabulado (KANITKAR & KANITKAR, 2003). Alguns experimentos falharam na tentativa de indicar os requerimentos nutricionais para o desenvolvimento de culturas de fungos nematófagos (COSCARELLI & PRAMER 1962), porém foi demonstrado que esses fungos nematófagos crescem bem em meio de cultivo contendo ácido oléico e o aminoácido D-alanina como fonte de carbono e energia para o processo de formação de armadilhas (ROSENZWEIG & ACKROYD, 1983; DIJKSTERHUIS et al. 1993). Segundo MAIA et al. (2001) os fungos nematófagos tem habilidade de colonizar a rizosfera e isso tem sido apontado como uma característica importante para um agente de controle biológico.

Tabela 2: Número médio de *Pratylenchus jaehni* e *Tylenchulus semipenetrans* nas parcelas tratadas com a formulação dos fungos nematófagos e testemunha (sem tratamento) no solo e nas raízes coletadas, em pomar de laranja 'Pêra' enxertada sobre limoeiro 'Cravo', no Município de Itápolis-SP, no período de setembro de 2008 a setembro de 2009.

Tratamentos	Avaliação de 6 meses após a aplicação da formulação dos fungos nematófagos		Avaliação de 9 meses após a aplicação da formulação dos fungos nematófagos		Avaliação de 12 meses após a aplicação da formulação dos fungos nematófagos	
	<i>Pratylenchus jaehni</i> ¹	<i>Tylenchulus semipenetrans</i> ¹	<i>Pratylenchus jaehni</i>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	<i>Pratylenchus jaehni</i>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>
1 Litro da Formulação	50,00 b	790,00	430,00 b	570,00	6063,50	1552,00
2 Litros da Formulação	5215,00 a	1090,00	1150,00 b	250,00	5233,50	960,00
4 Litros da Formulação	1180,00 b	940,00	470,00 b	400,00	6957,50	1410,00
6 Litros da Formulação	1645,00 b	990,00	220,00 b	500,00	2914,00	2527,00
Testemunha (Dose Zero)	1945,00 b	1480,00	2520,00 a	1890,00	6908,00	3127,50
Teste F (Tratamento)	9,47*	0,14 ^{ns}	9,52*	0,92 ^{ns}	0,37 ^{ns}	1,30 ^{ns}
CV %	44,24	90,89	44,98	135,00	68,87	57,29

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo; * Significativo a 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade. ¹ Número total de nematoides extraídos em 100 cm³ de solo somado aos extraídos de 10 g de raízes de cada amostra.

Tabela 3: Análise química do solo do pomar de laranjeira 'Pêra' da Fazenda das Antas, Itápolis-SP, área experimental.

pH em	M.O.	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
CaCl ₂	g/dm ³	resina mg/dm ³	mmol _c /dm ³				%		
5,9	16	65	1,6	30	12	12	43,6	54,6	80

CONCLUSÕES

O fungo *D. leptospora* apresentou baixa persistência no solo, pois foi encontrado somente na avaliação de 6 meses após a aplicação dos tratamentos.

Os isolados *A. robusta*, *A. musiformis*, *A. oligospora* e *Monacrosporium eudermatum* foram recuperados em todos os períodos avaliados e inclusive na avaliação da parcela testemunha indicando que essas espécies já estavam presentes no solo e sobreviveram por um período mais longo em relação as demais espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BARRON, G. L. **The genera of Hyphomycetes from soil.** Huntington, New York, R. E. Krieger Publishing Co., 1972., 364p.

CALZAVARA, S. A.; SANTOS, J. M. Manejo dos nematóides dos citros no Brasil. In: PINTO, A. S. & ZACCARO, R. P. (Org.). **Produção de mudas e manejo fitossanitário dos citros**. Piracicaba, 2008, p. 17-33.

CARDOSO, E. R. **Fungos nematófagos em diferentes solos e Caracterização fisiológica de *Arthrobotrys oligospora***. 82 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Agronomia, área de concentração em Microbiologia Agrícola) – Departamento de Microbiologia, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, 2007.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. (eds) **Nematology: advances and perspectives**, vol II. Nematode management and utilization. Tsinghua University Press and CABI Publishing, Cambridge, 2004, p. 343–403.

COOKE, R. C.; GODFREY, B. E. S. A key to the nematode-destroying fungi. **Trans. Brit. Mycol. Soc**, London, v. 47, n. 1, 1964.

COSCARELLI, W.; PRAMER, D. Nutrition and growth of *Arthrobotrys conoides*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 84, n. 1, p. 60-64, 1962.

DACKMAN, C.; JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagous fungi and their activities in soil. In: Stotzky G, Bollag JM (eds) **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 95–103.

DALLA PRIA, M.; FERRAZ, S. Controle biológico de *Meloidogyne incognita*, raça 3, por 6 espécies de *Monacrosporium*, isoladas ou combinadas com *Verticillium chlamydosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 30-34, 1996.

DIAS, W. P. **Controle de *Meloidogyne incognita* raça 3, com *Arthrobotrys* spp.** 70f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1992.

DIJKSTERHUIS, J.; HARDER, W.; VEENHUIS, M. Proliferation and function of the microbodies in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora* during growth on oleic acid or D-alanine as the sole carbon source. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 94, p. 1 -9, 1993.

FERRAZ, S.; MAIA, A. S.; MUCHOVEJ, J. J.; SANTOS, J. M. Detecção isolamento, identificação e avaliação *in vitro* da capacidade predatória de fungos nematófagos de solos brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16., 1992, Lavras, MG. **Resumos...** Lavras: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1992. p. 85-86.

GASPARD, J. T.; MANKAU, R. Nematophagous fungi associated with *Tylenchulus semipenetrans* and the citrus rhizosphere. **Nematologica**, Leithen, v. 32, p. 359-363, 1986.

GENÉ, J.; VERDEJO-LUCAS, S.; STCHIGEL, A. M.; SORRIBAS, F. J. AND GUARRO, J. Microbial parasites associated with *Tylenchulus semipenetrans* in citrus orchards of Catalonia, Spain. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 15, n. 7, p. 721 – 731, 2005.

GRAY, N. F. Ecology of nematophagous fungi: effect of soil moisture, organic matter, pH and nematode density on distribution. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, n. 4, p. 499-507, 1985.

GRAY, N. F. Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. **Biological Reviews**, v. 62, p. 245-304, 1987.

JAFFEE, B. A. Population biology and biological control of nematodes. **Canadian Journal Microbiology**, Ontario, v. 38, p. 359–364, 1992.

JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E.; PHILLIPS, R.; MANGEL, M. Rates of spore transmission, mortality, and production for the nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 80, p. 1083–1088, 1990.

JAFFEE, B. A.; McINNES, T. M. Sampling strategies for detection of density-dependent parasitism of soil-borne nematodes by nematophagous fungi. **Rèvue Nematologie**, Paris, v. 14, p. 147–150, 1991.

KANITKAR, S. I.; KANITKAR, R. U. Nematodes capture by *Arthrobotrys oligospora* KTS1001 – a nematode hungry fungus. 2003. Published Online. Disponível em: http://www.biologicalresearch.com/?no_redirect=true. Consultado em 25 de agosto de 2011, às 12:20.

KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 22, n. 4, p. 621-631, 1990. Supplement.

LIMA, R. D. **Caracterização de isolados e avaliação da patogenicidade de *Arthrobotrys* spp. a fitonematoides**. 88f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1996.

MAIA, A. S.; FERRAZ, S.; DALLA PRIA, M. S. Detecção, isolamento e identificação de *Monacrosporium* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 1993, Jaboticabal, SP. **Resumos...** Jaboticabal, 1993. p. 69.

MAIA, A. S.; SANTOS, J. M. dos; DI MAURO, A. O. Estudo *in vitro* da habilidade predatória de *Monacrosporium robustum* sobre *Heterodera glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 732-736, 2001.

MANKAU, R. Biological control of nematodes pest by natural enemies. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 18, p. 415-440, 1980.

MARTINELLI, P. R. P. **Estudos do controle biológico dos nematoides dos citros no Estado de São Paulo**. 106f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal) – Departamento de Fitossanidade, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, 2008.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M.; SANT'ANNA, S. J.; SOARES, P. L. M. Fungos Nematófagos em Pomares de Citros nos Estados de São Paulo e Goiás. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 123-131, 2009.

OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S.; ALFENAS, A. C.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Caracterização morfológica e isoenzimática de espécies de *Arthrobotrys oligospora* no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 181-197. 2002.

POINAR JUNIOR, G. O.; JANSSON, H. (Eds.). **Diseases of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, v. 1, p. 149, 1988a.

POINAR JUNIOR, G. O.; JANSSON, H. (Ed.). **Diseases of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, v. 2, p. 139. 1988b.

RIBEIRO, R. C. F.; FERRAZ, S.; MIZOBUTSI, E. H. Avaliação da eficiência de isolados de *Monacrosporium* spp. no controle de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 23, n. 2, p. 48-61, 1999a.

RIBEIRO, R. C. F.; FERRAZ, S.; MIZOBUTSI, E. H.; MENEZES, M. Levantamento de espécies de *Monacrosporium* predadoras de nematoides em diversas regiões brasileiras. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 23, n. 2, p. 41-47, 1999b.

RODRIGUES, A. K.; FREITAS, L. G.; AZEVEDO, A. A.; FERRAZ, S. Desenvolvimento de *Pasteuria penetrans* em *Meloidogyne* spp. parasitando diferentes espécies vegetais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 267-272, 2003.

ROSENZWEIG, W. D; ACKROYD, D. Binding characteristics of lectins involved in the trapping of nematodes by fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 46, n. 5, p. 1093-1096, 1983.

RUBNER, A. Revision of predacious Hyphomycetes in the *Dactylella-Monacrosporium* complex. **Studies in Mycology**. Berlin, n. 39, 1996.

SANTOS, M. A. **Detecção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos do Brasil**. 97f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1991.

SASSER, J. N. & FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: the role of the society. In: Veech, J.A. & Dickson, D.W. (Eds.) **Vistas on Nematology**, Maryland: Society of Nematologists, 1987, p. 7-14.

SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; SANTOS, J. M. dos.; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* no cultivo de alface em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: SBN, 2005. p. 67.

TEDFORD, E. C.; JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E. Effects of soil moisture and texture on transmission of the nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis* to cyst and root-knot nematodes. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82, p. 1002–1007, 1992.

TIMPER, P.; KAYA, H. K.; JAFFEE, B. A. Survival of entomogenous nematodes in soil infested with the nematode-parasitic fungus *Hirsutella rhossiliensis* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Biological Control**, London, v. 1, p. 42–50, 1991.

WALTER, D. E.; KAPLAN, D. T. Antagonists of plant-parasitic nematodes in Florida citrus. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 22, p. 567-573, 1990.

CÁPITULO 3 - DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE CINCO FUNGOS NEMATÓFAGOS APLICADOS SOB A COPA DE LARANJEIRAS 'PÊRA' ENXERTADAS SOBRE LIMOEIRO 'CRAVO' PLANTADAS NO SENTIDO LESTE-OESTE

RESUMO

Numerosos micro-organismos já foram encontrados associados a *T. semipenetrans*, tais como espécies de fungos predadores. Contudo, para *P. jaehni* estudos recentes comprovaram a eficácia de várias espécies de fungos nematófagos no controle deste nematoide. Entretanto, entre esses predadores, cerca de 75% são fungos da biota dos solos agricultáveis. Portanto, o interesse em saber se a persistência desses fungos varia com a maior ou menor insolação pode ser útil no planejamento da aplicação dos agentes a campo. O objetivo do trabalho foi avaliar a distribuição espacial nos sentidos norte, sul, leste e oeste de cinco fungos nematófagos aplicados em pomar comercial de citros no Município de Itápolis-SP, no período de setembro de 2008 a junho de 2009. Os seguintes tratamentos foram adotados: 0; 1; 2; 4 e 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos (*Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum*)/planta. Foram coletadas amostras nas parcelas tratadas, nos sentidos norte, sul, leste e oeste. Alíquotas de 2 g de cada amostra foi plaqueada em ágar-água a 2%. As culturas foram incubadas em BOD a $25 \pm 1^{\circ}$ C, no escuro e as observações foram realizadas após 2 dias de incubação, diariamente, durante uma semana. Após esse período, as observações foram semanais, durante 2 meses. Os resultados indicaram que os fungos das espécies de *Arthrobotrys* já estavam presentes no solo onde foi conduzido o experimento, não tendo um padrão de distribuição geográfica na projeção da copa das plantas. O fungo *D. leptospora* não foi recuperado em nenhum dos tratamentos em nenhum dos períodos avaliados e em nenhuma face amostrada, assim indicando baixa capacidade de sobrevivência no solo. *Monacrosporium eudermatum* foi recuperado em todos os tratamentos até os 6 meses de idade, sem nenhum padrão de distribuição

geográfica nas faces amostradas, após esse período, não foi mais recuperado em nenhum tratamento e em nenhuma face amostrada.

Palavras-chave: Controle biológico, nematoides dos citros, formulação de fungos nematófagos.

INTRODUÇÃO

O controle biológico com fungos nematófagos vem despertando um grande interesse no manejo de nematoides tanto no Brasil como no mundo (BARRON & THORN, 1987; SANTOS, 1991; MAIA et al., 2001; CORBANI, 2002; MARTINELLI et al., 2009; MARTINELLI & SANTOS, 2010). Numerosos micro-organismos já foram encontrados associados a *T. semipenetrans*, tais como espécies de fungos predadores (STIRLING & MANKAU, 1978; GASPARD & MANKAU, 1986; WALTER & KAPLAN, 1990; RACCUZZO et al., 1992) e as bactérias hiperparasitas *Pasteuria* spp. (FATTAH et al., 1989; WALTER & KAPLAN, 1990; SORRIBAS et al., 2000). Contudo, para *P. jaehni* estudos recentes de MARTINELLI (2008) comprovou a eficácia de várias espécies de fungos nematófagos no controle deste nematoide, inclusive em teste a campo com uma formulação de cinco fungos nematófagos reduzindo cerca de 90% da população de *P. jaehni*. Entretanto, entre esses predadores, cerca de 75% são fungos da biota dos solos agricultáveis (JATALA, 1986; VAN GUNDY, 1985 citado por SANTOS, 1991; STIRLING, 1991). De acordo com KERRY (1988), a introdução de um agente nematófago no solo depende da existência de condições ecológicas adequadas ou que podem ser criadas e enquanto não se conhecer mais sobre os fatores que afetam a atividade destes fungos, seu potencial como agente de controle biológico não terá sucesso. Portanto, o interesse em saber se a persistência desses fungos varia com a maior ou menor insolação pode ser útil no planejamento da aplicação dos agentes a campo.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a distribuição espacial nos sentidos norte, sul, leste e oeste de cinco fungos nematófagos aplicados em pomar comercial de citros no Município de Itápolis - SP, aos 6 e 9 meses após a aplicação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Sítio das Antas, no Município de Itápolis-SP, localizado em latitude $-21,43^{\circ}$ S e longitude $-48,73^{\circ}$ O, em pomar de Laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), variedade Pêra, enxertada sobre limoeiro 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck), com 25 anos de idade, (plantadas no sentido leste-oeste), no período de julho de 2008 a outubro de 2008. As parcelas continham cinco plantas no espaçamento de 7 x 5 m. Os seguintes tratamentos foram adotados: 0; 1; 2; 4 e 6 L da formulação dos fungos (*Arthrobotrys robusta* Dudd, *A. oligospora* Fresenius, *A. musiformis* Drechsler, *Dactylella leptospora* Grove e *Monacrosporium eudermatum* Drechsler)/planta. Foram adotadas quatro repetições distribuídas no delineamento de blocos ao acaso (DBC).

Os fungos *Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum* foram formulados em bagaço de cana-de-açúcar e farelo de arroz (SOARES et al., 2005ab; MARTINELLI, 2008). As doses foram aplicadas uniformemente sob a projeção das copas das árvores, brevemente incorporadas com um rastelo.

As avaliações foram realizadas aos 6 e 9 meses após a aplicação, coletando-se amostras de terra sob a projeção da copa das três plantas centrais da parcela nas faces norte, sul, leste e oeste (Figura 1) de cada planta. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV.

Alíquotas de 2 g de cada amostra foram plaqueada em ágar-água a 2%, segundo metodologia de BARRON (1977), modificada por SANTOS (1991). Foram adotadas 6 repetições para cada amostra coletada em cada parcela dos tratamentos. As culturas foram incubadas em BOD a $25 \pm 1^{\circ}$ C, no escuro e as observações foram realizadas após 2 dias de incubação, diariamente, durante uma semana. Após esse período, as

observações foram semanais, durante 2 meses. As placas foram subdivididas em 4 quadrantes para facilitar a avaliação. Foram contadas colônias de cada fungo nematófago encontrado, com auxílio de um estereoscópico. Para a identificação das espécies de isolados dos fungos foram utilizadas as chaves de identificação propostas por COOKE & GODFREY (1964), BARRON (1972) e RUBNER (1996). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias testadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

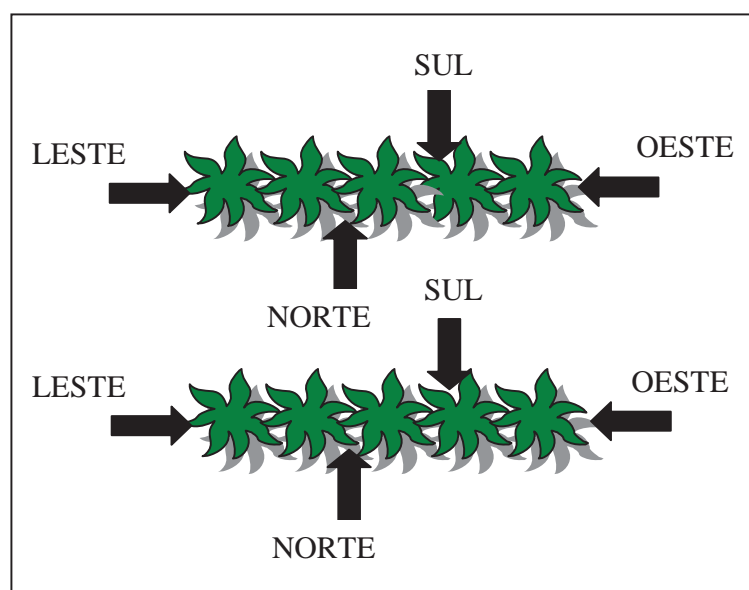


Figura 1: Orientação da amostragem para o estudo da persistência dos fungos nematófagos nas parcelas de acordo a face de exposição (norte, sul, leste e oeste) das plantas tratadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, os dados indicam que na dose de 1 L da formulação composta pelas espécies de fungos nematófagos (*A. oligospora*, *A. robusta*, *A. musiformis*, *M. eudermatum* e *D. leptospora*), *A. oligospora* e *D. leptospora* não foram encontrados nas amostras coletadas em nenhuma das faces amostradas. Entretanto, *A. robusta* foi

encontrado em todas as faces amostradas, sendo que o maior número de colônias foi obtido nas faces oeste e sul, diferindo estatisticamente das demais, exceto da face sul que diferiu da leste. MARTINELLI et al., (2009) em estudo da distribuição de fungos nematófagos em pomares de laranjeira do Estado de São Paulo, constataram que *A. oligospora*, *A. robusta*, *A. musiformis*, *M. eudermatum* e *D. leptospora* estavam presentes em 68,4% das amostras de solo analisadas e que *D. leptospora* foi encontrado em 2,63% dos pomares. Para *A. musiformis* e *M. eudermatum* os fungos encontrados não diferiram estatisticamente entre as faces amostradas, embora tenha exibido uma tendência para maior abundância na face sul. Para a dose de 2 L da formulação por planta, *A. oligospora*, *A. musiformis* e *M. eudermatum* foram encontrados igualmente distribuídos em todas as faces amostradas, contudo não houve diferença estatística significativa entre as faces (Tabela 1). PERSMARK et al. (1996) relataram que o fungo *A. oligospora* tem sido considerado um fungo saprofítico, podendo crescer em substratos disponíveis do solo, diferentemente dos fungos essencialmente parasitas. O crescimento rápido e a produção abundante de micélio são dois importantes fatores para a disseminação e sobrevivência dos fungos em condições ambientais, embora o crescimento micelial não esteja relacionado com a capacidade de um isolado em predação nematóides (DACKMAN et al., 1987). O fungo *A. robusta* não foi encontrado nos tratamentos de 2 L da formulação em nenhuma das faces, aos 6 meses após a aplicação (Tabela 1).

Na dose de 4 L da formulação todos os fungos foram encontrados em todas as faces amostradas, exceto *D. leptospora* que não foi encontrado em nenhuma das doses testadas. Os maiores números de colônias foram obtidos das amostras coletadas nas faces norte, leste e oeste, diferindo estatisticamente da face sul, exceto para o fungo *A. oligospora* que foi encontrado somente na face sul (Tabela 1). Também, os maiores números de colônias foram obtidos em ordem decrescente para *A. musiformis*, *A. robusta*, *M. eudermatum* e *A. oligospora* independente da face (Tabela 1).

No tratamento com a dose de 6 L da formulação todos os fungos foram isolados das amostras das faces leste, oeste, norte e sul, aos seis meses após a aplicação. Entretanto, o maior número de colônias de *A. oligospora* foi encontrado nas amostras da face sul seguido pela face oeste, diferindo das demais (Tabela 1). No tratamento testemunha (sem aplicação da formulação) os isolados *M. eudermatum* e *D. leptospora*

não foram encontrados nas amostragens das parcelas. *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* foram encontrados nas parcelas, mas não diferiram estatisticamente na distribuição entre as faces norte-sul, leste-oeste. Já *A. robusta* estava mais concentrado na face oeste, diferindo estatisticamente das demais faces (Tabela 1). Esses resultados sugerem que *Arthrobotrys* spp. já estavam presentes na área antes da aplicação da formulação, como encontrados em levantamento da população de fungos nematófagos em pomares de citros de São Paulo (MARTINELLI, 2008) e da Catalúnia (GENÉ et al., 2005).

Os dados da Tabela 2 evidenciam que todos os tratamentos em todas as faces amostradas foram menores que na avaliação de 6 meses após a aplicação da formulação. Na dose de 2 L da formulação por planta e no tratamento testemunha não foram encontrados nenhum dos fungos aplicados em nenhum dos pontos amostrados nas plantas (Tabela 2). Entretanto, na dose de 1 L da formulação foi encontrado *A. musiformis* e *A. oligospora* no sentido leste diferindo estatisticamente dos demais, e somente esses dois fungos foram encontrados nesse tratamento (Tabela 2). Na dose de 4 L da formulação foram encontrados *A. musiformis*, *A. oligospora* e *A. robusta* não diferindo estatisticamente entre as faces (Tabela 2). Para a dose de 6 L da formulação, *A. musiformis* foi encontrado e com maior número de colônias na face norte, diferindo, estatisticamente das demais. Também o número de colônias de *A. oligospora* não diferiu entre as faces amostradas (Tabela 2). Na Tabela 3 temos a análise química do solo na área do experimento, observa-se que o pH ácido do solo favorece o crescimento de espécies de *Arthrobotrys* (CARDOSO, 2007). Contudo, outros autores demonstraram que alguns fatores do solo podem contribuir no aumento das colônias dos fungos nematófagos. De acordo com GRAY (1985), os fungos predadores foram mais influenciados pelo pH e a umidade do que por outros fatores do solo e que a matéria orgânica apenas influenciou nos fungos endoparasitas formadores de conídios. GRAY (1987), também relacionou a presença de fungos nematófagos endoparasitas com solos com alta concentração de N, P e K. Aumento no número de fungos predadores e endoparasitas, bactérias e nematoides foi atribuído ao aumento no conteúdo de matéria orgânica pela aplicação de esterco bovino no solo (DACKMAN et al., 1987).

Tabela 1: Distribuição espacial (norte, sul, leste e oeste) do número médio de colônias dos fungos nematófagos aplicados em pomar de laranja comercial em setembro de 2008, no Município de Itápolis - SP, 6 meses após a aplicação.

1 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos					
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>
Leste	3,00 ¹	2,16 bc	-	0,50	-
Oeste	3,00	3,83 a	-	0,00	-
Norte	3,50	1,83 c	-	0,33	-
Sul	3,83	3,33 ab	-	0,50	-
Teste F (Tratamento)	1,39 ^{ns}	4,16*	-	1,05 ^{ns}	-
CV %	6,34	9,92	-	5,44	-
2 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos					
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>
Leste	0,33	-	3,33	0,66	-
Oeste	0,00	-	4,00	0,83	-
Norte	0,83	-	3,50	0,16	-
Sul	0,50	-	3,50	0,00	-
Teste F (Tratamento)	1,88 ^{ns}	-	0,49 ^{ns}	1,45 ^{ns}	-
CV %	5,94	-	7,42	7,73	-
4 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos					
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>
Leste	3,16 a	2,67 a	0,00	2,00 a	-
Oeste	3,66 a	3,50 a	0,00	0,00 b	-
Norte	3,50 a	2,33 ab	0,00	0,33 b	-
Sul	0,50 b	1,00 b	0,67	0,16 b	-
Teste F (Tratamento)	17,49**	4,30*	2,50 ^{ns}	3,93*	-
CV %	6,85	9,92	5,07	10,76	-
6 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos					
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>
Leste	2,83	0,00	2,50 b	0,00	-
Oeste	4,00	0,00	3,83 a	0,00	-
Norte	3,50	0,00	2,83 b	0,16	-
Sul	2,67	0,67	4,00 a	0,33	-
Teste F (Tratamento)	2,57 ^{ns}	1,81 ^{ns}	5,81**	1,41 ^{ns}	-
CV %	7,09	5,95	6,72	3,25	-
Testemunha (sem aplicação da formulação)					
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>
Leste	0,83	0,00 b	3,00	-	-
Oeste	0,50	2,00 a	3,83	-	-
Norte	2,66	0,00 b	3,33	-	-
Sul	2,00	0,16 b	3,67	-	-
Teste F (Tratamento)	2,79 ^{ns}	4,59*	1,42 ^{ns}	-	-
CV %	12,84	10,57	5,63	-	-

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. ¹ Dados originais, transformados em X+10 para análise de variância. ^{ns} Não significativo; * Significativo a 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 2: Distribuição espacial (norte, sul, leste e oeste) do número médio de colônias dos fungos nematófagos aplicados em pomar de laranja comercial em setembro de 2008, no Município de Itápolis - SP, 9 meses após a aplicação.

1 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos						
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	
Leste	1,00 a	-	1,33 a	-	-	-
Oeste	0,00 b	-	0,00 b	-	-	-
Norte	0,00 b	-	0,00 b	-	-	-
Sul	0,16 b	-	0,00 b	-	-	-
Teste F (Tratamento)	3,11*	-	4,00*	-	-	-
CV %	6,45	-	7,90	-	-	-
2 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos						
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	
Leste	-	-	-	-	-	-
Oeste	-	-	-	-	-	-
Norte	-	-	-	-	-	-
Sul	-	-	-	-	-	-
Teste F (Tratamento)	-	-	-	-	-	-
CV %	-	-	-	-	-	-
4 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos						
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	
Leste	1,33	0,16	0,66	-	-	-
Oeste	1,00	0,00	0,33	-	-	-
Norte	1,50	0,33	0,00	-	-	-
Sul	1,83	0,00	1,33	-	-	-
Teste F (Tratamento)	0,27 ^{ns}	0,73 ^{ns}	1,76 ^{ns}	-	-	-
CV %	14,07	4,50	9,91	-	-	-
6 L/planta da formulação composta por 5 fungos nematófagos						
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	
Leste	0,16 b	-	0,00	-	-	-
Oeste	0,00 b	-	0,16	-	-	-
Norte	0,83 a	-	0,66	-	-	-
Sul	0,00 b	-	0,33	-	-	-
Teste F (Tratamento)	3,33*	-	1,76 ^{ns}	-	-	-
CV %	5,19	-	5,09	-	-	-
Testemunha (sem aplicação da formulação)						
Coordenada Geográfica	<i>Arthrobotrys musiformis</i>	<i>Arthrobotrys robusta</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Monacrosporium eudermatum</i>	<i>Dactylella leptospora</i>	
Leste	-	-	-	-	-	-
Oeste	-	-	-	-	-	-
Norte	-	-	-	-	-	-
Sul	-	-	-	-	-	-
Teste F (Tratamento)	-	-	-	-	-	-
CV %	-	-	-	-	-	-

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. ¹Dados originais transformados em X+10 para análise de variância. ^{ns}Não significativo; * Significativo a 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 3: Análise química do solo da cultura de laranjeira variedade Pêra da Fazenda das Antas, Itápolis-SP, área experimental, 2008.

pH em	M.O.	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
CaCl ₂	g/dm ³	resina mg/dm ³	mmol/dm ³				%		
5,9	16	65	1,6	30	12	12	43,6	54,6	80

CONCLUSÕES

Os fungos das espécies de *Arthrobotrys* já estavam presentes no solo onde foi conduzido o experimento, não tendo um padrão de distribuição espacial na projeção da copa das plantas.

O fungo *D. leptospora* não foi recuperado em nenhum dos tratamentos em nenhum dos períodos avaliados e em nenhuma face amostrada, assim indicando baixa capacidade de persistência no solo.

Monacrosporium eudermatum foi recuperado em todos os tratamentos até os 6 meses de idade, sem nenhum padrão de distribuição geográfica nas faces amostradas, após esse período, não foi mais recuperado em nenhum tratamento e em nenhuma face amostrada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BARRON, G.L.; THORN, R.G. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. **Canadian Journal of Botany**, Ontário, v. 65, p. 774-778, 1987.

BARRON, G. L. **The genera of Hyphomycetes from soil**. Huntington, New York, R. E. Krieger Publishing Co., 1972., 364p.

CARDOSO, E. R. Fungos nematófagos em diferentes solos e Caracterização fisiológica de *Arthrobotrys oligospora*. 82 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Agronomia, área de concentração em Microbiologia Agrícola) – Departamento de Microbiologia, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, 2007.

COOKE, R. C.; GODFREY, B. E. S. A key to the nematode-destroying fungi. **Trans. Brit. Mycol. Soc**, London, v. 47, n. 1, 1964.

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 44f. Dissertação de Mestrado (Mestrado e Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, 2002.

DACKMAN, C.; OLSON, S., JANSSON; H. B., LUNDGREN B.; NORDBRING-HERTZ, B. Quantification of predatory and endoparasitic nematophagous fungi and their activities in soil. **Microbial Ecology**, New York, v. 13, p. 89-93, 1987.

FATTAH, F. A.; SALEH, H. M.; ABOUD, H. M. Parasitism of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by *Pasteuria penetrans* in Iraq. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 21, n. 3, p. 431-433, 1989.

GASPARD, J. T.; MANKAU, R. Nematophagous fungi associated with *Tylenchulus semipenetrans* and the citrus rhizosphere. **Nematologica**, Leithen, v. 32, p. 359-363, 1986.

GENÉ, J.; VERDEJO-LUCAS, S.; STCHIGEL, A. M.; SORRIBAS, F. J. AND GUARRO, J. Microbial parasites associated with *Tylenchulus semipenetrans* in citrus orchards of

Catalonia, Spain. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 15, n. 7, p. 721 – 731, 2005.

GRAY, N. F. Ecology of nematophagous fungi: effect of soil moisture, organic matter, pH and nematode density on distribution. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, n. 4, p. 499-507, 1985.

GRAY, N. F. Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. **Biological Reviews**, v. 62, p. 245-304, 1987.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, Stanford, v. 24, p. 453-489, 1986.

KERRY, B. R. Fungal parasites of cyst nematodes. **Agricultural Ecosys. Environmental**. v. 24, p. 293-305, 1988.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M.; SANT'ANNA, S. J.; SOARES, P. L. M. Fungos nematófagos de pomares de citros nos Estados de São Paulo e Goiás. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 123-131, 2009.

MARTINELLI, P. R. P. **Estudos do controle biológico dos nematoides dos citros no Estado de São Paulo**. 2008, 106f. (Dissertação de Mestrado), FCAV/UNESP, Jaboticabal, 2008.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. SOBREVIVÊNCIA DE FUNGOS NEMATÓFAGOS APLICADOS NO CAMPO PARA O MANEJO DE *Pratylenchus jaehni* EM CITROS In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, XXI, Natal. **Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Resumo expandido, CD Rom, 2010.

MAIA, A. S.; SANTOS, J. M.; DI MAURO, A. Estudos in vitro da habilidade predatória de *Monacrosporium robustum* sobre *Heterodera glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 732-736, 2001.

PERSMARK, L.; BANCK, A.; JANSSON, H. B. Population dynamics of nematophagous fungi and nematodes in an arable soil: vertical and seasonal fluctuations. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 8, p. 1005-1014, 1996.

RACCUZO, G.; CIANCIO, A.; LO GUIDICE, V. Some observations on the ecology of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* Cobb in Southern Italy. **Proceedings of International Society of Citriculture**, Acireale, v. 3, p. 950-952. 1992.

RUBNER, A. Revision of predacious Hyphomycetes in the *Dactylella-Monacrosporium* complex. **Studies in Mycology**. Berlin, n. 39, 1996.

SANTOS, M. A. **Detecção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos do Brasil**. 97f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1991.

SORRIBAS, F. J.; VERDEJO-LUCAS, S.; ORNER, J. B.; ALCAIDE, A.; PONS, J.; ORNAT, C. Seasonality of *Tylenchulus semipenetrans* Cobb and *Pasteuria* sp. in citrus orchards in Spain. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 32, p. 622-632, 2000.

SOARES, P. L. M.; FERRAZ, M. P. S.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; BRAZ, L. T.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* na produção comercial de pimentão em ambiente protegido. **In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba, Resumos...**Piracicaba: SBN, p. 68, 2005b.

SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus*

reniformis no cultivo de alface em ambiente protegido. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA**, 25, 2005, Piracicaba, Resumos...Piracicaba: SBN, p. 67, 2005a.

STIRLING, G. R.; MANKAU, R. *Dactylella oviparasitica*, a New Fungal Parasite of *Meloidogyne* Eggs. **Mycologia**, Stanford, v. 70, n. 4, p. 774-783, 1978.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospects**. Wallingford: CAB International, 1991. 282p.

VAN GUNDY, S. D. Biological control of nematodes: status and prospects in agricultural IPM Systems. In: HOY, M. A.; HERZOG, D. C. (Eds.). **Biological control in agricultural IPM systems**. New York: Academic Press, 1985, p. 467-47

WALTER, D. E.; KAPLAN, D. T. Antagonists of plant-parasitic nematodes in Florida citrus. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 22, p. 567-573, 1990.

CAPÍTULO 4- CONTROLE BIOLÓGICO DE *Pratylenchus jaehni* E *Tylenchulus semipenetrans* EM POMARES DE LARANJEIRA 'PÊRA' COM FORMULAÇÕES CONTENDO FUNGOS NEMATÓFAGOS ASSOCIADAS A ALDICARBE

RESUMO

Este trabalho foi composto por dois experimentos conduzidos em pomares laranjeiras infestados por *P. jaehni* e *T. semipenetrans*, no Sítio das Antas, localizado no Município de Itápolis-SP e o outro no Sítio Boa Vista, no Município de Taquaritinga-SP, infestado apenas por *T. semipenetrans*. Os fungos *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus*, *Dactylella leptospora*, *Monacrosporium eudermatum* e *Arthrobotrys musiformis* foram formulados em uma mistura bagaço de cana e farelo de arroz. Os tratamentos adotados foram: 1 L e 2 L da formulação contendo os cinco fungos; 1L da formulação + 65 g de aldicabe (produto comercial Temik® 150 G); 2 L formulação + 65 g de aldicarbe; 130 g de aldicarbe; 65 g de aldicarbe e testemunha sem a aplicação das formulações e do aldicarbe. Os tratamentos de 2 L da formulação de fungos nematófagos e 1 L da formulação mais 65 g do nematicida foram os que proporcionaram os melhores resultados 94,65 e 84,09% de redução da população de *P. jaehni*, respectivamente, na avaliação aos 60 dias, para este mesmo nematoide na avaliação aos 120 dias foi observado uma redução de 85,02 e 85,06%, respectivamente para os tratamentos de 2 L da formulação de fungos nematófagos e 1 L da formulação mais 65 g do nematicida. Os melhores tratamentos para o controle biológico de *T. semipenetrans* nas avaliações aos 60; 120 e 180 dias foram 2 L da formulação dos fungos nematófagos, 2 L da formulação mais 65 g do nematicida e 130 g do nematicida por planta. Esses tratamentos reduziram 62,72; 61,06 e 49,91% da população de *T. semipenetrans*, respectivamente, na avaliação de 60 dias, 84,77; 69,29 e 95,85% aos 120 dias e 79,82; 73,25 e 86,27% aos 180 dias após a aplicação.

Palavras-chaves: Nematicida sistêmico, nematoides dos citros, formulação biológica de fungos nematófagos, *Citrus* spp.

INTRODUÇÃO

Entre os vários nematoides associados às plantas cítricas em todo o mundo, cerca de 10 espécies são considerados nematoides chave da cultura (DUNCAN & COHN, 1990). Entretanto, no Brasil, as espécies chave da citricultura paulista são *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb) e *Pratylenchus jaehni* (Inserra et al.). Com efeito, embora as perdas causadas por esses nematoides ainda não tenham sido quantificadas, apenas essas duas espécies estão associadas a danos expressivos a cultura no Estado de São Paulo (SANTOS et al., 2005).

As estimativas das perdas causadas por nematoides na produção mundial dos citros são de 14,2% (SASSER & FRECKMAN, 1987). Entretanto, em certos locais, essas perdas podem ser muito maiores. TERSI et al. (1995) estimaram que, em talhões infestados por *P. jaehni* no Município Itápolis-SP, a produção foi cerca de três vezes menor que em talhões não infestados.

O controle biológico com fungos nematófagos tem uma trajetória de grande interesse no manejo de nematoide, tanto no Brasil como no mundo (BARRON & THORN, 1987; SANTOS, 1991; CORBANI, 2002; MARTINELLI & SANTOS, 2007abc). Numerosos micro-organismos já foram encontrados associados a *T. semipenetrans*, tais como espécies de fungos predadores (STIRLING & MANKAU, 1978; GASPARD & MANKAU, 1986; WALTER & KAPLAN, 1990; MARTINELLI et al., 2009) e as bactérias hiperparasitas *Pasteuria* spp. (FATTAH et al., 1989; WALTER & KAPLAN, 1990). Entretanto, entre esses micro-organismos, cerca de 75% são fungos da biota dos solos agricultáveis (JATALA, 1986; STIRLING, 1991).

Quanto à *P. jaehni*, os estudos sobre os inimigos naturais ainda são incipientes em razão de a espécie ter sido descrita recentemente (INSERRA et al., 2001). MARTINELLI & SANTOS (2007c) isolaram algumas espécies de *Arthrobotrys* Corda,

Monacrosporium Oudemans e *Dactyllela* Grove associados a *P. jaehni* em pomares de citros do Estado de São Paulo.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia de uma formulação de cinco fungos nematófagos associada ao controle químico no manejo de *P. jaehni* e *T. semipenetrans* a campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi composto por dois experimentos conduzidos em pomares de laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) enxertado sobre limoeiro 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck) com 25 anos de idade, infestados por *P. jaehni* e *T. semipenetrans*. Um foi instalado no Sítio das Antas, no Município de Itápolis-SP, localizada à latitude -21,43° S e longitude -48,73 O e o outro 18 anos de idade no Sítio Boa Vista, no Município de Taquaritinga-SP, localizado na latitude -21,31° S e longitude -48,60 O, infestado apenas com *T. semipenetrans*, em ambos os pomares o cultivo não era irrigado. Os experimentos foram conduzidos durante o período de setembro de 2008 a setembro de 2009. As parcelas contendo cinco plantas no espaçamento de 7 x 5 m, foram marcadas e amostradas, adotando-se quatro repetições distribuídas no delineamento em blocos ao acaso. Uma amostra composta de três subamostras de terra e raízes das três plantas centrais de cada parcela foi coletada para avaliação da população inicial dos nematoides (análise prévia). As duas plantas (inicial e final) das parcelas foram mantidas como bordadura. Os fungos *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams, *Paecilomyces lilacinus* Thorn, *Dactylella leptospora* Grove, *Monacrosporium eudermatum* Drechsler e *Arthrobotrys musiformis* Drechsler foram formulados em bagaço de cana e farelo de arroz, conforme proposto por SOARES et al. (2005ab) e MARTINELLI (2008). Os tratamentos adotados foram os seguintes: 1 L e 2 L da formulação contendo partes iguais do substrato colonizados pelos cinco fungos nematófagos (*P. chlamydosporia*, *P. lilacinus*, *D. leptospora*, *M. eudermatum* e *A. musiformis*); 1 L da formulação + 65 g de aldicarbe; 2 L formulação + 65 g de aldicarbe, 130 g de aldicarbe, 65 g de aldicarbe e a testemunha sem aplicação. O material foi

levemente incorporado ao solo, com auxílio de um rastelo, sob a projeção da copa das árvores. As avaliações foram feitas aos 60; 120; 180 dias após a aplicação. Imediatamente após a avaliação aos 180 dias, todos os tratamentos foram reaplicados nas respectivas parcelas. Novas avaliações foram efetuadas como no caso anterior, aos 240; 300 e 360 dias após a instalação dos experimentos. Foram coletadas amostras composta de terra e raízes nas três plantas centrais das parcelas para extração e quantificação dos nematoides. Os nematoides foram extraídos das amostras de solo pela técnica de JENKINS (1964) e das raízes pela de COOLEN & D'HERDE (1972) e as contagens foram efetuadas nas suspensões com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970) ao microscópio fotônico. Os dados foram utilizados para o cálculo da porcentagem de controle em relação a análise prévia [%C = (100* 1-(Tratamento/Prévia)] uma modificação da fórmula de ABBOTT (1925), que mede a redução da população de nematoides, proporcionada pelos tratamentos, em relação a uma população inicial, avaliada antes da aplicação dos tratamentos. A seguir, procedeu-se a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Duncan a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 observa-se que nas avaliações aos 60 e 120 dias após a aplicação todos os tratamentos reduziram a população de *P. jaehni* e diferiram estatisticamente da testemunha a 1% de probabilidade. Contudo, na avaliação aos 60 dias, os tratamentos de 2 L da formulação de fungos nematófagos e 1 L da formulação mais 65 g do nematicida proporcionaram as maiores porcentagens de redução da população de *P. jaehni*, em relação a avaliação prévia, equivalentes a 94,65 e 84,09%, respectivamente. Entretanto, não diferiram dos outros tratamentos que variou de 58,18 a 76,95% de controle (Tabela 1). Na avaliação aos 120 dias não houve diferença entre os tratamentos, mas todos diferiram da testemunha. Como no caso anterior, os mesmos tratamentos propiciaram as maiores porcentagens de redução da população do nematoide, com 85,02 e 85,06%, respectivamente, e para os demais variou de 52,61

a 77,95% (Tabela 1). MARTINELLI (2008) obteve reduções de 90% da população de *P. jaehni* com a dose de 2 L dessa formulação de fungos nematófagos por planta. Na avaliação de 180 dias observaram-se as mesmas tendências que ocorreram nas avaliações anteriores, com maiores reduções nos tratamentos de 2 L da formulação de fungos nematófagos com 92,66% de redução. A dose de 2 L da formulação mais 65 g do nematicida foi estatisticamente inferior a essa mesma dose da formulação sem o nematicida, com 53,52%. Com efeito, aos 180 dias após a aplicação já não há efeito residual do produto. A melhor eficiência da mesma dose da formulação dos fungos sem o nematicida pode ser o reflexo da atividade do produto sobre a biota do solo. KUSESKE et al. (1974), observaram que a aplicação de doses de 5 e 500 ppm de uma formulação comercial de aldicarbe (100 g/kg de i.a.) resultou na diminuição populacional da microflora nos primeiros 16 dias e, depois, estimulou o crescimento da população, na proporção da dose de aplicação, ao longo de 14 dias. Os microorganismos utilizados neste estudo foram actinomicetos, *Nitrosomonas europaea* Rasche e *Nitrobacter agilis* Lehmann & Neumann. Também há de se considerar a interação entre a população do nematoide e os fatores climáticos (Figura 1), pois há correlação negativa significativa entre os tratamentos de 2 L da formulação, 2 L da formulação mais 65 g de aldicarbe, 130 g de aldicarbe e 65 g de aldicarbe com a umidade relativa do ar (Tabela 3). Significando que com aumento da umidade relativa ocorre a redução da população de *P. jaehni*, devido a maior atividade microbiana no solo úmido também favorece a deterioração das radículas lesadas pelo nematoide. Por conseguinte, há uma migração de adultos e formas juvenis do nematoide das radículas necrosadas para o solo, muito maior nessa situação (CAMPOS, 2007). Então além da ação dos fungos nematófagos sobre a população dos nematoides, temos o fator umidade colaborando para a redução da população dos mesmos como sugere CAMPOS (2007).

Além disso, a dose de 1 L da formulação dos fungos mais 65 g do nematicida propiciou maior percentagem de controle do nematoide que o dobro da dose dos fungos com a mesma dose do nematicida, embora não tenham diferido, estatisticamente entre si, mas diferiram da testemunha (Tabela 1).

Nas avaliações de 240, 300 e 360 dias, coincidindo com o período de 60, 120 e 180 dias após a reaplicação dos tratamentos, a análise de variância pelo Teste F não revelou diferença significativa entre os tratamentos a 5% de probabilidade (Tabela 1).

Entretanto, houve aumento da população do nematoide no tratamento testemunha nas três avaliações subsequentes (240, 300 e 360 dias) conforme consta na Tabela 1. A eficácia da predação de *P. jaehni* in vitro por fungos nematófagos já havia sido demonstrada por MARTINELLI & SANTOS (2007bc), embasando a hipótese de que o controle biológico do nematoide com a formulação utilizada pode ser viável. Com efeito, além dos produtos químicos existentes no mercado, em todo o mundo, REDDY et al. (1991) e REDDY et al. (1996ab) mencionaram que os fungos nematófagos podem ser substitutos ou até mesmo podem ser aplicados junto com nematicidas, permitindo a redução das doses, para o manejo dos nematoides dos citros.

CAMPOS (2007) em estudo da flutuação da população de *P. jaehni* notou que a população do nematoide diminuía nos períodos mais chuvosos do ano e aumentava nos períodos mais secos. Ainda CAMPOS (2007), estudando a eficiência do controle químico dos nematoides dos citros com aldicarbe, não encontrou eficiência satisfatória no controle de *P. jaehni*. Entretanto, os dados obtidos indicaram que a época em que o tratamento foi efetuado (período chuvoso), não foi a mais indicada, em função da dinâmica da população do nematoide nos pomares. Portanto, esse autor recomenda que o período mais indicado para controle químico seja no final do período chuvoso.

Entretanto, NOVARETTI et al. (1997) e VERDEJO-LUCAS & MCKENRY (2004) mencionaram que a eficiência do controle químico dos nematoides dos citros torna-se mais evidente apenas depois da segunda aplicação dos nematicidas no campo.

Observando os dados da Tabela 2 nas avaliações de 60; 120 e 180 dias ocorreu reduções da população de *T. semipenetrans*, em relação a prévia, em todos os tratamentos exceto na testemunha, onde ocorreu aumento da população (Tabela 2). Esse fato foi atribuído a predação e parasitismo dos nematoides pelos fungos nematófagos e a sua associação com aldicarbe, confirmando os resultados dos estudos de MARTINELLI (2008) que constatou redução de 97% da população de *T. semipenetrans* no solo e nas raízes de plantas de laranja em pomar comercial. CAMPOS (2007) também observou que a população de *T. semipenetrans* exibe um pico nos meses de inverno, enquanto no período de verão (chuvoso), a população se encontra nos níveis mais baixos.

Tabela 1: Médias das percentagens de controle em relação à análise prévia de *Pratylenchus jaehni* com uma formulação contendo cinco fungos nematófagos associadas com Aldicarbe, aplicados em pomar de laranja 'Pêra' enxertada sobre limoeiro 'Cravo', no Município de Itápolis-SP, conduzidos entre setembro de 2008 a setembro de 2009.

TRATAMENTO	MÉDIA DA PERCENTAGEM DE CONTROLE DE <i>Pratylenchus jaehni</i> NO SOLO E NAS RAÍZES EM RELAÇÃO À PRÉVIA ¹					
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS [#]	240 DIAS	300 DIAS	360 DIAS
1 L da formulação de 5 FN/planta	58,18 a	68,51 a	55,82 ab	61,93	49,79	56,55
2 L da formulação de 5 FN/planta	94,65 a	85,02 a	92,66 a	69,44	59,96	65,55
1 L da formulação de 5 FN + 65 g de Aldicarbe/planta	84,09 a	85,06 a	83,26 ab	61,02	65,37	35,77
2 L da formulação de 5 FN + 65 g de Aldicarbe/planta	76,95 a	77,95 a	53,52 b	65,23	59,13	41,60
130 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	67,95 a	58,26 a	69,12 ab	72,19	69,29	74,70
65 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	68,89 a	52,61 a	75,14 ab	55,03	41,09	23,22
Testemunha	-3066,49 b	-1633,27 b	-2160,23 c	-32,11	-173,01	-62,01
Teste F ¹ (Tratamento)	6,16**	9,24**	7,67**	0,26 ^{ns}	1,52 ^{ns}	0,70 ^{ns}
Teste F (Blocos)	1,52 ^{ns}	1,10 ^{ns}	1,12 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,93 ^{ns}	1,33 ^{ns}
CV (%)	42,61	34,00	39,95	58,38	94,31	91,35

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. ^{ns}Não significativo; **Significativo a 1%; *Significativo a 5%; ¹Dados calculados em percentagem de controle em relação a prévia [%C = (100*(1-(Tratamento/Prévia))]; Valores negativos significam aumento da população em relação a prévia; FN = Fungos Nematófitos; p.c. produto comercial; [#] reaplicação dos tratamentos.

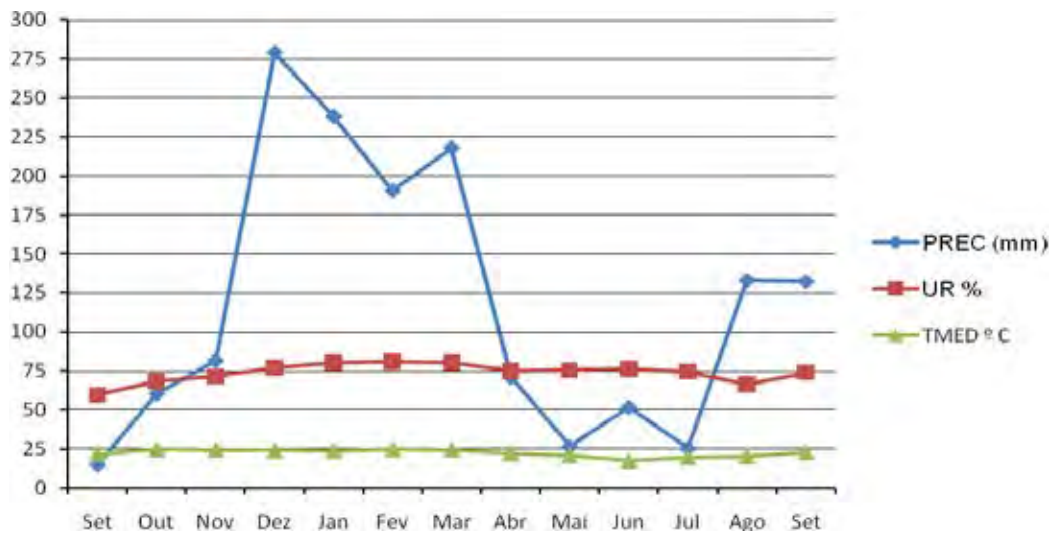


Figura 1: Médias mensais de precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa (%) e temperatura (°C), no período de setembro de 2008 a setembro de 2009 para os Municípios de Itápolis e Taquaritinga-SP, fornecidos pela estação meteorológica da FCAV/UNESP de Jaboticabal-SP, com aproximadamente 15 Km de Taquaritinga e 60 Km de Itápolis.

Entretanto, no presente estudo observa-se correlações significativas entre a umidade relativa e a população de *P. jaehni*, com o aumento da umidade relativa tem a redução da população do nematoide (Figura 1 e Tabela 3).

Os melhores tratamentos para o controle biológico de *T. semipenetrans* nas avaliações de 60; 120 e 180 dias foram 2 L da formulação dos fungos nematófagos, 2 L da formulação mais 65 g de aldicarbe e 130 g de aldicarbe. Esses tratamentos reduziram 62,72; 61,06 e 49,91% da população de *T. semipenetrans*, respectivamente, para a avaliação aos 60 dias. Aos 120 dias observaram-se reduções de 84,77; 69,29 e 95,85%, e aos 180 dias essas reduções foram de 79,82; 73,25 e 86,27% (Tabela 2). As mesmas tendências de reduções foram observadas nas avaliações de 240; 300 e 360 dias, coincidindo com 60, 120 e 180 dias, após a reaplicação dos tratamentos. Contudo, não diferiram estatisticamente entre si e nem da testemunha (Tabela 2). CORBANI (2002), em estudo do controle biológico a campo de *T. semipenetrans* com fungos nematófagos, observou que na dose de 1 kg de quirera de arroz colonizada pelos fungos nematófagos, aplicados isoladamente, houve diferença estatística significativa na população do nematoide nas raízes entre a dose e a testemunha, mas não entre os tratamentos com os fungos. REDDY et al. (1996abc) também obtiveram redução da população de *T. semipenetrans* com uso de vários fungos combinados com tortas de mamona e de neem, tanto no solo como nas raízes.

Tabela 2: Médias das percentagens de controle em relação a análise prévia de *Tylenchulus semipenetrans* com uma formulação contendo cinco fungos nematófagos associados com Aldicarbe, aplicados em pomar de laranjeira 'Pêra' enxertadas sobre limoeiro 'Cravo', no Município de Taquaritinga-SP, conduzidos entre setembro de 2008 a setembro de 2009.

TRATAMENTO	MÉDIA DA PERCENTAGEM DE CONTROLE DE <i>Tylenchulus semipenetrans</i> NO SOLO E NAS RAÍZES EM RELAÇÃO À PRÉVIA ¹					
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS [#]	240 DIAS	300 DIAS	360 DIAS
1 L da formulação de 5 FN/planta	43,46 ab [~]	82,60 a	75,93 a	60,27	80,06	57,00
2 L da formulação de 5 FN/planta	62,72 a	84,77 a	79,82 a	73,32	50,21	57,52
1 L da formulação de 5 FN + 65 g de Aldicarbe/planta	17,81 ab	63,78 a	51,36 a	82,94	29,06	77,57
2 L da formulação de 5 FN + 65 g de Aldicarbe/planta	61,06 a	69,29 a	73,25 a	67,71	69,57	69,14
130 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	49,91 a	95,85 a	86,27 a	64,16	83,97	79,80
65 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	16,15 ab	76,42 a	53,05 a	55,67	47,90	61,54
Testemunha	-159,63 c	-26,38 b	-75,31 b	29,79	28,96	-1360,30
Teste F ¹ (Tratamento)	2,84*	9,65**	6,29**	1,10 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,96 ^{ns}
Teste F (Blocos)	0,33ns	0,65 ^{ns}	0,27 ^{ns}	1,95 ^{ns}	0,44 ^{ns}	1,00 ^{ns}
CV (%)	76,05	33,45	41,97	54,74	97,79	37,93

[~]Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. ^{ns}Não significativo; ^{**}Significativo a 1%; ^{*}Significativo a 5%; ¹Dados calculados em percentagem de controle em relação a prévia [%C = (100*(1-(Tratamento/Prévia)))] ; Valores negativos significam aumento da população em relação a prévia; FN = Fungos Nematófitos; p.c. produto comercial; [#]reaplicação dos tratamentos.

Os dados da Tabela 2 evidenciam um aumento da população de *T. semipenetrans* no tratamento testemunha de quase todas as avaliações, a exceção das avaliações de 240 e 300 dias. Esse fato confirma que os fungos nematófagos estão exercendo o controle dos nematoides nas parcelas tratadas. A interação com os fatores climáticos ocorreram apenas nos tratamentos de 1 L da formulação dos fungos nematófagos/planta, 1 L da formulação mais 65 g de aldicarbe/planta e 65 g de aldicarbe/planta, com correlação negativa entre esses tratamentos e a umidade relativa do ar (Tabela 3). Os demais fatores não apresentaram correlações com os tratamentos (Tabela 3).

Na avaliação aos 180 dias após a reaplicação dos tratamentos não houve diferença entre os tratamentos nem entre esses e a testemunha. Entretanto, houve um aumento expressivo da população do nematoide na testemunha e redução para os demais tratamentos. MARTINELLI (2008), avaliando diferentes doses da formulação de fungos nematófagos aplicados a campo para controle de *T. semipenetrans*, concluiu que nas maiores doses, os fungos não foram eficientes no controle do nematoide. O autor atribuiu esse fato a competição entre os micro-organismos, em função do excesso de inóculo no solo.

CONCLUSÃO

Os fungos nematófagos podem ser aplicados concomitantemente com o nematicida aldicarbe não afetando a persistência dos micro-organismos no solo e produzindo uma interação positiva no controle dos nematoides dos citros *T. semipenetrans* e *P. jaehni*. Portanto, pode-se reduzir a dose de nematicida utilizada para o controle deste nematoides, assim reduzindo o custo de manejo do patógeno.

Tabela 3: Coeficientes de correlação entre os números de *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni* coletados nas parcelas tratadas, no solo e nas raízes, sob a projeção da copa de plantas de laranja 'Pêra' e os fatores meteorológicos: precipitação pluviométrica (PREC), umidade relativa (UR) e temperatura média (TMED), no período de setembro de 2008 a setembro de 2009, nos Municípios de Itápolis e Taquaritinga-SP.

TRATAMENTO	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE (PEARSON)					
	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>			<i>Pratylenchus jaehni</i>		
	PREC. (mm)	UR %	TMED (°C)	PREC. (mm)	UR %	TMED (°C)
1 L da formulação de 5 FN/planta	-0,63 ^{ns}	-0,40 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	-0,59 ^{ns}	-0,85*	-0,39 ^{ns}
2 L da formulação de 5 FN/planta	-0,83*	-0,90**	-0,59 ^{ns}	-0,68 ^{ns}	-0,73 ^{ns}	-0,58 ^{ns}
1 L da formulação de 5 FN + 65 g de Aldicarbe/planta	-0,62 ^{ns}	-0,40 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	-0,54 ^{ns}	-0,84*	-0,31 ^{ns}
2 L da formulação de 5 FN + 65 g de Aldicarbe/planta	-0,72*	-0,85*	-0,49 ^{ns}	-0,39 ^{ns}	-0,74 ^{ns}	-0,22 ^{ns}
130 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	-0,67 ^{ns}	-0,98**	-0,25 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,02 ^{ns}
65 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	-0,68 ^{ns}	-0,79*	-0,17 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	-0,79*	-0,30 ^{ns}
Testemunha	-0,65 ^{ns}	-0,27 ^{ns}	-0,72 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,73 ^{ns}	0,14 ^{ns}

* Significativo a 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade; ^{ns} Não significativo; FN = fungos nematófagos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economic Entomology**, Riverside, v. 18, p. 265-267, 1925.

BARRON, G. L.; THORN, R. G. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. **Canadian Journal of Botany**, Ontario, v. 65, p. 774-778, 1987.

CAMPOS, A. S. **Dinâmica populacional e distribuição vertical dos nematóides dos citros no Estado de São Paulo e efeito da aplicação de aldicarbe no período mais quente do ano**. 52f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 44f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2002.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Center, 1972. 77p.

DUNCAN, L. W.; COHN, E. Nematode parasites of citrus. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.) **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. Wallingford: CAB International, 1990. p. 321-346.

FATTAH, F. A.; SALEH, H. M.; ABOUD, H. M. Parasitism of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by *Pasteuria penetrans* in Iraq. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 21, n. 3, p. 431-433, 1989.

GASPARD, J.T.; MANKAU, R. Nematophagous fungi associated with *Tylenchulus semipenetrans* and the citrus rhizosphere. **Nematologica**, Prince, v. 32, p. 359-363, 1986.

INSERRA, R. N.; DUNCAN, L. W.; TROCCOLI, A.; DUNN, D.; SANTOS, J. M. dos; KAPLAN, D.; VOVLAS, N. *Pratylenchus jaehni* sp. n. from citrus in Brazil and its relationship with *P. coffeae* and *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae) **Nematology**, Leiden, v. 3, n. 7, p. 653-665, 2001.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, New York, v. 24, p. 453-489, 1986.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p. 692-95, 1964.

KUSESKE, D. W.; FUNK, B. R.; SCHULTZ, J. T. Effects and persistence of Baygon (propoxur) and Temik (aldicarb) insecticides in soil. **Plant Soil**, n. 41, p. 255-269, 1974.

MARTINELLI, P. R. P. **Estudos do controle biológico dos nematóides dos citros no Estado de São Paulo**. 106 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal) – Departamento de Fitossanidade FCAV/UNESP, Jaboticabal, 2008.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. Detecção e isolamento de fungos nematófagos de *Tylenchulus semipenetrans* em amostras de solo de pomares de citros do estado de São Paulo. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 30, 2007, Jaboticabal, **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, supl., p. 23, 2007a.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. Patogenicidade in vitro de espécies de *Arthobotrys* a *Pratylenchus jaehni*. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 30, 2007, Jaboticabal, **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, supl., p. 23, 2007b.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. Patogenicidade in vitro de *Monacrosporium* sp. e *Dactylella* sp. a *Pratylenchus jaehni*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 27, 2007, Goiânia, **Resumos...** Goiânia: SBN, p. 53, 2007 c.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M.; SANT'ANNA, S. J.; SOARES, P. L. M. Fungos nematófagos de pomares de citros nos Estados de São Paulo e Goiás. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 2, p. 123-131, 2009.

NOVARETTI, W. R. T.; PAULO, A. D.; NOVARETTI, A. A. P. Efeito da época de aplicação de nematicidas em pomares cítricos, no controle do nematóide *Tylenchulus semipenetrans*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, p. 14, 1997.

SANTOS, M. A. **Detecção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos em solos do Brasil**. 97f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

SANTOS, J. M.; CAMPOS, A. S.; AGUILAR-VILDOSO, C. I. Nematóide dos citros. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. (Eds.). **Citros**. Cordeirópolis: Instituto Agrônomo de Campinas, 2005. p. 607-625.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: the role of the society. In: Veech, J.A. & Dickson, D.W. (Eds.) **Vistas on Nematology**, Maryland: Society of Nematologists, 1987, p. 7-14.

SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; SANTOS, J. M. dos.; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* no cultivo de alface em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: SBN, p. 67, 2005a.

SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; BRAZ, L. T.; SANTOS, J. M. dos; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* na produção comercial de pimentão em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: SBN, p. 68, 2005b.

SOUTHEY, J. F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**, 5 ed. London: Ministry of Agriculture Fisheries and Food, 1970. 148 p. (Bulletin, 2).

STIRLING, G.R.; MANKAU, R. *Dactylella oviparasitica*, a new fungal parasite of *Meloidogyne* eggs. **Mycologia**, Stanford, v. 70, n. 4, p. 774-783, 1978.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant parasitic nematodes**: Progress, problems and prospects. Wallingford: CAB International, 1991. 282p.

REDDY, P. P.; KHAN, R. M.; RAO, M. S. Integrated management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using oil-cakes and *Paecilomyces lilacinus*. **Afro Asian Journal of Nematology**, Herts, v. 1 n. 1, p. 221-222, 1991.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Integrated management of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* using pesticides and parasitic fungus, *Paecilomyces lilacinus*. **Pest Management in Horticultural Ecosystemsn**, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 61-63, 1996b.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Management of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by integration of *Trichoderma harzianum* with oil cakes. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 24, n. 1, p. 265-267, 1996a.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Management of the citrus nematode on acid lime by integration of parasitic fungi and oil cakes. **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 15-18, 1996c.

TERSI, F. E. A., SANTOS, J. M. dos, MAIA, A. S. *Pratylenchus coffeae* e *Tylenchulus semipenetrans* causam redução de produtividade de citros em São Paulo, Brasil. **Nematropica**, Bradenton, v. 25, p. 106, 1995.

VERDEJO-LUCAS, S.; MCKENRY, M. V. Management of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v. 36, p. 424-432. 2004.

WALTER, D. E.; KAPLAN, D. T. Antagonists of plant-parasitic nematodes in Florida citrus. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 22, p. 567-573, 1990.

CAPÍTULO 5- APLICAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E FORMULAÇÃO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS NO MANEJO DE *Pratylenchus jaehni* E *Tylenchulus semipenetrans* EM POMAR DE CITROS

RESUMO

Uma das estratégias alternativas para o controle dos nematoides associados a plantas cítricas é a aplicação da matéria orgânica no solo e uso de formulações de fungos nematófagos. O uso de matéria orgânica vem demonstrando efeitos benéficos sobre a disponibilidade de nutrientes do solo, características físicas do solo, atividade biológica e, assim, melhorando as condições de desenvolvimento das plantas e reduzindo a população dos nematoides. O experimento foi realizado no Município de Fernandópolis-SP, no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011, em pomar de laranja 'Pêra' enxertada sobre limoeiro 'Cravo', com 15 anos de idade, infectadas por *P. jaehni* e *T. semipenetrans*. Os tratamentos adotados foram: 2 L da formulação contendo partes iguais do substrato colonizados por cinco fungos nematófagos (*P. chlamydosporia*, *P. lilacinus*, *D. leptospora*, *M. eudermatum* e *A. musiformis*)/planta; 2 L da formulação + 15 Kg de esterco de curral curtido/planta, 2 L da formulação + 10 kg de esterco de curral curtido/planta, 2 L da formulação + 15 kg de esterco de galinha curtido/planta, 2 L da formulação + 10 kg de esterco de galinha curtido/planta, 15 kg de esterco de curral curtido/planta, 10 kg de esterco de curral curtido/planta, 15 kg de esterco de galinha curtido/planta, 10 kg de esterco de galinha curtido/planta, 130 g de aldicarbe (produto comercial Temik® 150G)/planta e testemunha sem aplicação.

A adição de esterco de galinha e curral apresenta efeito positivo na aplicação concomitantemente com as formulações de fungos nematófagos para o controle dos nematoides dos citros, com reduções em média de 50 a 60% em relação à testemunha. O esterco de galinha demonstrou uma interação mais eficiente com a formulação dos fungos nematófagos na redução da população dos nematoides dos citros. Quando aplicado somente o esterco de galinha obteve-se reduções superiores ao esterco de curral.

Palavras-chave: Esterco de curral, esterco de galinha, controle biológico, nematoides dos citros.

INTRODUÇÃO

Apesar dos nematoides geralmente serem considerados pragas silenciosas, perdas de até 80% têm sido associadas em áreas com altas infestações (SIDDIQI, 2000; KASKAVALCI, 2007). Na cultura do citros, no Brasil, os nematoides que causam danos são *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb) e *Pratylenchus jaehni* (Inserra et al.). Embora as perdas causadas por esses nematoides ainda não tenham sido quantificadas, apenas essas duas espécies estão associadas a danos expressivos à cultura no Estado de São Paulo (SANTOS et al., 2005). Contudo, estimativas das perdas causadas por nematoides à produção mundial dos citros são de 14,2% (SASSER & FRECKMAN, 1987). Entretanto, em certos locais, essas perdas podem ser muito maiores. TERSI et al. (1995) estimaram que, em talhões infestados por *P. jaehni* no município Itápolis-SP a produção foi cerca de três vezes menor que em talhões não infestados.

Durante décadas, o controle de nematoides dependia principalmente do uso de nematicidas (AKHTAR & MALIK, 2000). Embora, os nematicidas sejam eficientes e de ação rápida, eles estão sendo reavaliados no que diz respeito aos riscos ambientais, ao homem e a eles associados. Além disso, eles são relativamente inacessíveis para muitos pequenos agricultores (MASHELA et al., 2008). Uma das estratégias alternativas para o controle dos nematoides associados a plantas cítricas é a aplicação da matéria orgânica no solo e uso de formulações de fungos nematófagos (MARTINELLI, 2008).

OKA et al. (2000) apontaram que a adição de matéria orgânica têm sido consistentemente demonstradas e têm efeitos benéficos sobre a disponibilidade de nutrientes do solo, características física do solo, atividade biológica e, assim, melhorar as condições de desenvolvimento das plantas e reduzir a população dos nematoides.

KIMENJU et. al. (2004) relataram que a aplicação de matéria orgânica estimulou a atividade de antagonistas naturais de nematoides. No entanto, os resultados não mencionam o efeito da matéria orgânica na estimulação de fungos nematófagos.

Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de uma formulação contendo cinco fungos nematófagos associada a adição de matéria orgânica (esterco de curral e esterco de galinha) no manejo de *P. jaehni* e *T. semipenetrans* em pomar de laranja.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em pomar de laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) enxertado sobre limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) com 15 anos de idade, infestado por *P. jaehni* e *T. semipenetrans* na Fazenda São Bento, no Município de Fernandópolis-SP, localizado em latitude -20,207° S e longitude -50.176° O, no período de fevereiro de 2010 à fevereiro de 2011. As parcelas contendo cinco plantas no espaçamento de 7 x 5 m, foram marcadas e amostradas, adotando-se quatro repetições distribuídas no delineamento em blocos ao acaso (DBC). Uma amostra composta de três subamostras de solo e raízes das três plantas centrais de cada parcela foi coletada para avaliação da população inicial dos nematoides. As duas plantas (inicial e final) das parcelas foram mantidas como bordadura. Os nematoides foram extraídos das amostras de solo pela técnica de JENKINS (1964) e das raízes pela de COOLEN & D'HERDE (1972) e as contagens foram efetuadas nas suspensões com auxílio da câmara de contagem de Peters, ao microscópio fotônico. Os fungos *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams, *Paecilomyces lilacinus* Thorn, *Dactylella leptospora* Grove, *Monacrosporium eudermatum* Drechsler e *Arthrobotrys musiformis* Drechsler foram formulados em bagaço de cana e farelo de arroz, conforme proposto por SOARES et al. (2005ab) e MARTINELLI (2008). Os tratamentos adotados foram os seguintes: 2 L da formulação contendo partes iguais do substrato colonizados pelos cinco fungos nematófagos (*P. chlamydosporia*, *P. lilacinus*, *D. leptospora*, *M. eudermatum* e *A. musiformis*)/planta; 2 L da formulação + 15 kg de esterco de curral curtido/planta, 2 L da formulação + 10 kg de esterco de curral curtido/planta, 2 L da

formulação + 15 kg de esterco de galinha curtido/planta, 2 L da formulação + 10 kg de esterco de galinha curtido/planta, 15 kg de esterco de curral curtido/planta, 10 kg de esterco de curral curtido/planta, 15 kg de esterco de galinha curtido/planta, 10 kg de esterco de galinha curtido/planta, 130 g de aldicarbe (produto comercial Temik® 150G)/planta e testemunha sem aplicação. O material foi levemente incorporado ao solo, com auxílio de um rastelo, sob a projeção da copa das árvores. As avaliações foram feitas aos 60; 120; 180 dias após a aplicação. Imediatamente após a avaliação aos 180 dias, todos os tratamentos foram reaplicados nas respectivas parcelas. Novas avaliações foram efetuadas, aos 240; 300 e 360 dias após a instalação do experimento. Foram coletadas amostras compostas de terra e raízes nas três plantas centrais das parcelas para extração e quantificação dos nematoides. Os nematoides foram extraídos das amostras de terra pela técnica de JENKINS (1964) e das raízes pela de COOLEN & D'HERDE (1972) e as contagens foram efetuadas nas suspensões com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970) ao microscópio fotônico. Os dados foram determinados em percentagens de controle em relação ao tratamento testemunha pela fórmula de ABBOTT (1925) $[\%C = (100 \cdot (1 - (\text{Tratamento}/\text{Testemunha})))]$ e transformados em arco seno da raiz quadrada da percentagem. A seguir, procedeu-se a análise de variância que quando significativas foram comparadas pelo teste Duncan a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação da formulação contendo cinco fungos nematófagos se mostrou eficaz no controle dos nematoides dos citros *P. jaehni* e *T. semipenetrans*. Os dados da Tabela 1 evidenciam que nas avaliações de 60 e 120 dias após a aplicação dos tratamentos, contendo os fungos nematófagos, associados com a aplicação de matéria orgânica, todos os tratamentos reduziram a população de *P. jaehni*. Observa-se ainda na Tabela 1 que aos 60 dias após a aplicação o tratamento 2 L da formulação dos fungos nematófagos + 10 kg de esterco de galinha/planta foi o que obteve o melhor efeito na redução da população do nematoide, com 58,97% de redução de *P. jaehni*,

diferindo estatisticamente da testemunha, mas não diferindo dos demais tratamentos que variou de 8,81 a 53,09% de controle. Os tratamentos com 130 g de aldicarbe/planta e 15 kg de esterco de galinha/planta proporcionaram reduções de 53,09 e 46,69%, respectivamente, entretanto não diferiram da testemunha e nem dos tratamentos, mas foram superiores numericamente dos demais (Tabela 1). Para a avaliação de 120 dias após a aplicação, o tratamento com 15 kg de esterco de galinha/planta se destacou dos demais com redução de 61,81% da população de *P. jaehni*, diferindo da testemunha e do tratamento 2 L da formulação de fungos nematófagos + 15 kg de esterco de curral/planta com zero e 12,26% de controle, respectivamente, a 5% de probabilidade Tabela 1. O tratamento com 2 L da formulação de fungos nematófagos + 10 kg de esterco de galinha/planta se destaca dos demais com redução de 57,54% da população dos nematoides, mas não diferiu dos demais tratamentos. WACHIRA et al. (2009) em experimento comparando o efeito de esterco de curral, esterco de galinha e esterco de frango, aplicados no solo, para estímulo da atividade de fungos nematófagos, concluíram que o esterco de galinha tem maior efeito sobre a população de fungos nematófagos e também na redução da população de nematoides do solo. Estudos de KOENNING et al. (2003) revelaram o potencial nematicida de matéria orgânica utilizadas como fertilizantes. Quando incorporada ao solo, os substratos orgânicos sofrem decomposição biológica e liberam NH_4^+ , formaldeído, fenóis e ácidos graxos voláteis, entre outros compostos que têm efeito nematicida (WANG et al., 2004).

Na avaliação de 180 dias após a aplicação, todos os tratamentos reduziram a população do nematoide, entretanto o tratamento com 2 L da formulação de fungos nematófagos mais 10 kg de esterco de galinha/planta foi o tratamento mais eficaz com percentagem de redução de 59,89%, contudo não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, nem da testemunha a 5% de probabilidade (Tabela 1). Segundo WACHIRA et al. (2009) e KOENNING et al. (2003), a aplicação de matéria orgânica no solo causou um aumento do número de nematoides que se alimentam de bactérias e fungos. Os autores observaram um aumento de 225,96% na população de nematoides saprófitos em função da adição do esterco de galinha no solo. Além disso, a aplicação de esterco de várias fontes promoveram a supressão no números de nematoides fitoparasitas pelo aumento de antagonistas do solo. Ainda WACHIRA et al. (2009)

compararam a aplicação de esterco de galinha, esterco de curral e esterco de frango no solo que provocaram reduções de 92; 73 e 55%, respectivamente, da população de *Meloidogyne* spp. na rizosfera de plantas de tomateiro.

Em experimentos de controle biológico dos nematoides dos citros, PARVATHA REDDY et al. (1991), encontraram resultados mais promissores com aplicação de *P. lilacinus* associados com material orgânico. LE ROUX et al., (2000) encontraram resultados semelhantes em pomares de laranja na região de Valência na Espanha com a aplicação de fungos nematófagos associados com matéria orgânica.

Após a reaplicação dos tratamentos aos 180 dias observa-se uma maior eficiência na redução da população de *P. jaehni* nos tratamentos contendo os fungos nematófagos (Tabela 1). Na avaliação de 240 dias, ou seja, 60 dias após a reaplicação não houve diferença estatística entre os tratamentos, mas pode-se destacar os tratamentos de 2 L da formulação dos fungos nematófagos + 10 kg de esterco de curral/planta, 2 L da formulação dos fungos nematófagos/planta e 10 kg de esterco de curral/planta com reduções de 56,10; 49,87 e 49,56%, respectivamente (Tabela 1). Observa-se a mesma tendência de redução da população de *P. jaehni* nas avaliações subsequentes de 300 e 360 dias, com os tratamentos de 2 L da formulação dos fungos nematófagos/planta e 2 L da formulação dos fungos nematófagos + 10 kg de esterco de galinha/planta, destacando-se com reduções de 41,80 e 38,58%, na avaliação de 300 dias e 43,91 e 52,09% na avaliação de 360 dias, respectivamente. MARTINELLI (2008) utilizando a mesma formulação contendo os cinco fungos nematófagos obteve reduções de até 80% da população de *P. jaehni* tanto no solo quanto nas raízes de plantas de laranjeiras 'Pêra' tratadas com os fungos nematófagos em pomar comercial de laranja variedade 'Pêra', no Município de Itápolis-SP.

Na Tabela 2, referente ao controle de *T. semipenetrans* observa-se resultados semelhantes ao controle de *P. jaehni* com redução da população do nematoide em todos os tratamentos. Destacando-se aos 60 dias após a aplicação os tratamentos de 2 L da formulação + 10 kg de esterco de galinha/planta, 2 L da formulação + 15 kg de esterco de galinha/planta e 130g de aldicarbe, com redução de 65,83; 82,76 e 78,24%, respectivamente, diferindo estatisticamente da testemunha a 5% de probabilidade. Para

a avaliação de 120 dias após a aplicação os tratamentos de 2 L da formulação dos fungos + 10 kg de esterco de galinha/planta, 2 L da formulação de fungos nematófagos + 15 kg de esterco de curral/planta e 15 kg de esterco de curral/planta apresentaram reduções de 58,45; 51,33 e 56,34%, respectivamente, diferindo apenas da testemunha a 5% de probabilidade (Tabela 2). MARTINELLI (2008) testando diferentes doses da mesma formulação encontrou resultados superiores a 90% de controle de *T. semipenetrans* o que embasa os dados do presente estudo. CORBANI (2002) testando *A. musiformis*, *A. robusta* e *M. robustum* formulados em quirera de arroz para o controle de *T. semipenetrans* em pomar de laranja também encontrou resultados promissores no uso de formulação contendo esses fungos nematófagos.

Na avaliação de 180 dias após aplicação destacam-se os tratamentos: 2 L da formulação dos fungos nematófagos e 15 kg de esterco de curral/planta com reduções de 50,98 e 51,01%, respectivamente, porém não houve diferença estatística entre os tratamentos a 5% de probabilidade. Nesta avaliação, também, foram efetuadas as reaplicações dos tratamentos.

Na avaliação de 240 dias após a primeira aplicação, os tratamentos com maior destaque foram 2 L da formulação dos fungos nematófagos + 15 kg de esterco de curral/planta, 10 kg de esterco de galinha/planta e 10 kg de esterco de curral/planta, com reduções de 75,46; 64,86 e 61,03%, respectivamente, entretanto os tratamentos não diferiram entre si, somente o tratamento com 2 L da formulação dos fungos nematófagos + 15 kg de esterco de curral/planta diferiu da testemunha a 5% de probabilidade (Tabela 2). REDDY et al. (1991), em estudos utilizando torta de mamona (*Ricinus communis* L.) torta de karanj (*Pongamia pinnata* (L.) Pierre e torta de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) a 20 g por planta e 8 g de sementes de arroz colonizadas por *P. lilacinus*, por planta, observaram a máxima redução na população de *T. semipenetrans* na rizosfera de plantas cítricas com a combinação de neem + *P. lilacinus*. A menor redução na população do nematoide, nas raízes, foi obtida com óleo de mamona + *P. lilacinus*.

Tabela 1: Médias das percentagens de controle de *Pratylenchus jaehni* segundo ABBOTT (1925), após a aplicação e reaplicação da formulação de fungos nematófagos com adição de esterco de curral e esterco de galinha em pomar de laranja 'Pêra' irrigado, no município de Fernandópolis-SP, conduzido no período de fevereiro de 2010 à fevereiro de 2011.

TRATAMENTO	MÉDIAS DAS PERCENTAGENS DE CONTROLE DE <i>Pratylenchus jaehni</i> NO SOLO E NAS RAÍZES CALCULADOS SEGUNDO ABBOTT ¹					
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS [#]	240 DIAS	300 DIAS	360 DIAS
2 L da Formulação de FN/planta	21,21ab ^{''}	28,74 ab	44,80	49,87	41,80	43,91
2 L da Formulação +10 kg de esterco de galinha/planta	58,97 a	57,54 ab	59,89	41,90	38,58	52,09
2 L da Formulação +10 kg de esterco de curral/planta	8,81 ab	54,14 ab	24,33	56,10	32,54	28,53
2 L da Formulação +15 kg de esterco de galinha/planta	11,78 ab	44,75 ab	36,71	24,87	41,91	39,72
2 L da Formulação +15 kg de esterco de curral/planta	41,55 ab	12,26 bc	7,96	45,53	4,86	6,88
10 kg de esterco de galinha/planta	39,58 ab	44,74 ab	19,59	41,87	23,36	21,94
10 kg de esterco de curral/planta	36,23 ab	46,78 ab	4,51	49,56	5,82	4,52
15 kg de esterco de galinha/planta	46,69 ab	61,81 a	18,83	37,06	18,83	18,83
15 kg de esterco de curral/planta	21,07 ab	45,16 ab	26,04	18,85	29,22	28,27
130 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	53,09 ab	41,92 ab	19,09	35,92	12,94	15,28
Testemunha	0,00 b	0,00 c	0,00	0,00	0,00	0,00
Teste F ¹ (Tratamento)	1,36*	2,32*	0,92 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,86 ^{ns}
Teste F (Blocos)	5,89**	14,22**	2,67 ^{ns}	10,02**	1,34 ^{ns}	1,89 ^{ns}
CV (%)	98,77	55,35	108,87	83,31	114,06	107,58

^{''}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade; ^{ns}Não significativo; ^{**}Significativo a 1%; ^{*}Significativo a 5%; ¹Dados calculados em percentagem de controle segundo ABBOTT (1925) e transformados em arco seno(x/100)^{1/2} para análise estatísticas dos dados; [#]reaplicação dos tratamentos.

Nas avaliações de 300 e 360 dias após a aplicação dos tratamentos destacam-se os tratamentos de 2 L da formulação dos fungos nematófagos + 15 kg de esterco de galinha/planta e 15 kg de esterco de curral/planta com reduções de 61,23 e 49,31% na avaliação de 300 dias, respectivamente, entretanto não diferiram estatisticamente dos demais tratamentos. Na avaliação de 360 dias obtiveram-se reduções de 59,59 e 56,13%, respectivamente, contudo não diferiram dos demais tratamentos (Tabela 2).

Pensando-se no contexto de práticas agrícolas de agricultura orgânica, uso de fertilizantes orgânicos são considerados uma forma de restaurar a biodiversidade no ambiente edáfico (GARCIA et al., 2004), além de proporcionar aumento dos teores de nutrientes para as plantas e contribuir como fonte de alimento para o microbiota do solo. JAFFEE (2004), demonstrou que, em parcelas sob manejo orgânico observou-se números ligeiramente superiores de fungos nematófagos do que nas parcelas com manejo convencional tratadas com fertilizantes inorgânicos na cultura da uva na Califórnia.

Na Tabela 3, foram realizadas correlações entre dados meteorológicos (Figura 1), precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperatura média, onde observa-se que não há correlação entre a população dos nematoides e nenhum dos parâmetros correlacionados, portanto toda a redução na população dos nematoides *P. jaehni* e *T. semipenetrans* foram proporcionadas pelos tratamentos aplicados para o manejo dos nematoides dos citros.

Tabela 2: Médias das percentagens de controle de *Tylenchulus semipenetrans* segundo ABBOTT (1925), após a aplicação e reaplicação da formulação de fungos nematófagos com adição de esterco de curral e esterco de galinha em pomar de laranja 'Pêra' irrigado, no município de Fernandópolis-SP, conduzido no período de fevereiro de 2010 à fevereiro de 2011.

TRATAMENTO	MÉDIA DAS PERCENTAGENS DE CONTROLE DE <i>Tylenchulus semipenetrans</i> NO SOLO E NAS RAÍZES CALCULADOS SEGUNDO ABBOTT ¹					
	60 DIAS	120 DIAS	180 DIAS [#]	240 DIAS	300 DIAS	360 DIAS
2 L da Formulação de FN/planta	23,18 cd	20,03 ab	50,98	48,37 ab	48,35	50,44
2 L da Formulação +10 kg de esterco de galinha/planta	65,83 ab	58,45 a	34,19	49,58 ab	48,74	37,49
2 L da Formulação +10 kg de esterco de curral/planta	57,30 ab	41,66 ab	20,42	45,07 ab	20,45	20,35
2 L da Formulação +15 kg de esterco de galinha/planta	82,76 a	31,19 ab	42,60	34,83 ab	61,23	59,59
2 L da Formulação +15 kg de esterco de curral/planta	40,60 ab	51,33 a	44,30	75,46 a	44,92	44,52
10 kg de esterco de galinha/planta	63,58 ab	12,19 ab	35,31	64,86 ab	34,65	35,09
10 kg de esterco de curral/planta	26,71 bc	33,11 ab	18,61	61,03 ab	19,02	18,75
15 kg de esterco de galinha/planta	42,69 ab	34,57 ab	9,59	21,95 ab	20,79	19,02
15 kg de esterco de curral/planta	34,84 ab	56,34 a	51,01	42,49 ab	49,31	56,13
130 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	78,24 ab	20,57 ab	25,24	39,31 ab	45,25	40,93
Testemunha	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b	0,00	0,00
Teste F ¹ (Tratamento)	2,39*	1,39	0,78 ^{ns}	1,38*	0,92 ^{ns}	0,81 ^{ns}
Teste F (Blocos)	3,73*	3,34*	3,12*	5,26**	1,37 ^{ns}	1,49 ^{ns}
CV (%)	67,30	79,82	102,87	81,92	95,82	94,41

¹Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade; ^{ns}Não significativo; ** Significativo a 1%; *Significativo a 5%; [#]reaplicação dos tratamentos; ¹Dados calculados em percentagem de controle segundo ABBOTT (1925) e transformados em arco seno $(x/100)^{1/2}$ para análise estatísticas dos dados.

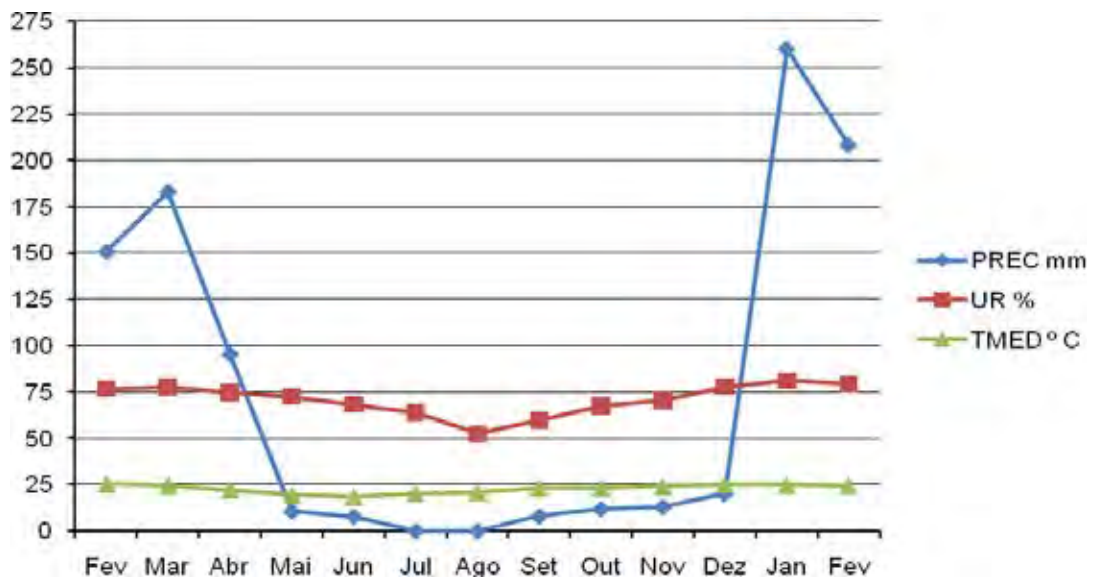


Figura 1: Médias mensais de precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa (%) e temperatura (°C), no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011 para o Município de Fernandópolis-SP, dados da estação meteorológica automática do INMET.

CONCLUSÕES

A adição de esterco de galinha e curral tem efeito positivo na aplicação concomitante com formulações de fungos nematófagos para o controle dos nematoides dos citros.

O esterco de galinha demonstrou uma interação mais eficiente com a formulação dos fungos nematófagos na redução da população dos nematoides dos citros. Quando aplicado somente o esterco de galinha obteve-se reduções superiores ao esterco de curral.

Tabela 3 - Coeficiente de correlação entre os números de *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni* coletados nas parcelas tratadas, no solo e nas raízes, sob a projeção da copa de plantas de laranja 'Pêra' irrigada e os fatores meteorológicos: precipitação pluviométrica (PREC), umidade relativa (UR) e temperatura média (TMED), no período de fevereiro de 2010 a fevereiro de 2011, no Município de Fernandópolis-SP.

TRATAMENTO	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE (PEARSON)					
	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>			<i>Pratylenchus jaehni</i>		
	PREC. (mm)	UR %	TMED (°C)	PREC. (mm)	UR %	TMED (°C)
2 L da Formulação de FN/planta	-0,13 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,66 ^{ns}	0,22 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,19 ^{ns}
2 L da Formulação +10 kg de esterco de galinha/planta	0,11 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,28 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,19 ^{ns}
2 L da Formulação +10 kg de esterco de curral/planta	0,02 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	0,35 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,14 ^{ns}
2 L da Formulação +15 kg de esterco de galinha/planta	-0,25 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,79*	0,22 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,25 ^{ns}
2 L da Formulação +15 kg de esterco de curral/planta	0,03 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,37 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,48 ^{ns}
10 kg de esterco de galinha/planta	-0,12 ^{ns}	-0,26 ^{ns}	-0,67 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,45 ^{ns}
10 kg de esterco de curral/planta	0,06 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,32 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,12 ^{ns}
15 kg de esterco de galinha/planta	0,08 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,29 ^{ns}	-0,48 ^{ns}
15 kg de esterco de curral/planta	0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	0,26 ^{ns}	-0,23 ^{ns}	0,14 ^{ns}
130 g de p.c. Aldicarbe/planta (Temik 150G)	-0,27 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,80*	0,23 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,32 ^{ns}
Testemunha	0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,33 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,41 ^{ns}

*Significativo a 5% de probabilidade; ** Significativo a 1% de probabilidade; ^{ns} Não significativo; FN = fungos nematófagos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economic Entomology**, v. 18, p. 265-267, 1925.

AKHTAR, M.; MALIK, A. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: A review. **Bioresour. Technol.**, v. 74, p. 35-47, 2000.

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 44f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, Jaboticabal, 2002.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Center, 1972. 77p.

GARCÍA-ÁLVAREZ, A.; ARIAS, M.; DÍEZ-ROJO, M. A.; BELLO, A. Effect of agricultural management on soil nematode trophic structure in a Mediterranean cereal system. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 27, p. 197-210, 2004.

JAFFEE, B. A. Do organic amendments enhance the nematode-trapping fungi *Dactyellina haptotyla* and *Arthrobotrys oligospora*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 36, p. 267-275, 2004.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

KASKAVALCI, G. Effects of soil solarization and organic amendment treatments for controlling *Meloidogyne incognita* in tomato cultivars in western Anatolia. **Turk. Journal Agric. For.**, v. 31, p. 159-167, 2007.

KIMENJU, J. W.; MUIRU, D. M.; KARANJA, N. K.; NYONGESA, M. W. & MIANO, D. W. Assessing the role of organic amendments in management of root-knot nematode on common bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Trop. Microbiol Biotechnol.**, v. 3, p. 14-23, 2004.

KOENNING, S. R.; EDMISTEN, K. L.; BARKER, K. R.; BOWMAN, D. T.; MORRISON, D. E. Effects of rate and time of application of poultry litter on *Hoplolaimus columbus* on cotton. **Plant Diseases**, Davis, v. 87, p. 1244-1249, 2003.

LE ROUX, H. F., M. C. PRETORIUS, and L. HUISMAN. Citrus nematode IPM in Southern Africa. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, v. 2, p. 823–827, 2000.

MARTINELLI, P. R. P. **Estudos do controle biológico dos nematoides dos citros no Estado de São Paulo**. 106 f. (Dissertação de Mestrado), FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2008.

MASHELA, P. W.; SHIMELIS, H. A.; MUNDAU, F. N. Comparison of the efficacy of ground wild cucumber fruits, aldicarb and fenamiphos on suppression of *Meloidogyne incognita* in tomato. **Phytopathology**, v. 156, p. 264-267, 2008.

OKA, Y.; KOLTAI, M.; BAR-EYAL, M. MOR, M.; SHARON, E. New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. **Pest Manage. Sci.** v. 56, p. 983-988, 2000.

PARVATHA REDDY, P., R. M. KHAN, and M. S. RAO. Integrated management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using oil-cakes and *Paecilomyces lilacinus*. **Afro-Asian Journal of Nematology**. Herts, v. 1, p. 221–222, 1991.

REDDY, P. P.; KHAN, R. M.; RAO, M. S. Integrated management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using oil-cake and *Paecilomyces lilacinus*. **Afro Asian Journal of Nematology**, v.1, n.1, p.221-222, 1991.

SANTOS, J. M.; CAMPOS, A. S.; AGUILAR-VILDOSO, C. I. Nematóides dos citros. In: JUNIOR, D. M.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. (Eds.). **Citros**. Cordeirópolis: Instituto Agronômico de Campinas, 2005. p. 607-625.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology: the role of the society. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D.W. (Eds.) **Vistas on Nematology**, Maryland: Society of Nematologists, 1987, p. 7-14.

SIDDIQI, M. R. **Tylenchida parasites of plants and insects**. 2nd Edn., CAB International, Wallingford, UK. P. 848, 2000.

SOARES, P. L. M.; FERRAZ, M. P. S.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; BRAZ, L. T.; SANTOS, J. M. dos.; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* na produção comercial de pimentão em ambiente protegido. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25**, 2005, Piracicaba, Resumos...Piracicaba: SBN, p. 68, 2005b.

SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; SANTOS, J. M. dos.; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* no cultivo de alface em ambiente protegido. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25**, 2005, Piracicaba, Resumos...Piracicaba: SBN, p. 67, 2005^a.

SOUTHEY, J. F. **Laboratory for work with plant and soil nematodes**, 5.ed. London: Ministerio Agriculture Fisch. Fd., 1970. 148. (Bulletin, 2).

TERSI, F. E. A.; SANTOS, J. M.; MAIA, A. S. *Pratylenchus coffeae* e *Tylenchulus semipenetrans* causam redução de produtividade de citros em São Paulo, Brasil. **Nematropica**, Bradenton, v. 25, p.106, 1995.

WACHIRA, P. M.; KIMENJU, J. W.; OKOTH, S. A.; MIBEY, R. K. Stimulation of nematode-destroying fungus by organic amendments applied in management of plant parasitic nematode. **Asian Journal Of Plant Sciences**, Karachi, V. 8, n. 2, p. 153-159, 2009.

WANG, K. H.; MCSORLEY, R.; GALLAHER, R. N. Effect of *Crotalaria juncea* amendment on squash infected with *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 36, p. 290-296, 2004.