

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

**ESTUDO DO CONTROLE BIOLÓGICO DOS NEMATÓIDES
DOS CITROS NO ESTADO DE SÃO PAULO**

Paulo Roberto Pala Martinelli

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2008

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

**ESTUDO DO CONTROLE BIOLÓGICO DOS NEMATÓIDES
DOS CITROS NO ESTADO DE SÃO PAULO**

Paulo Roberto Pala Martinelli

Orientador: Prof. Dr. Jaime Maia dos Santos

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

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2008

Martinelli, Paulo Roberto Pala

M386e Estudos do controle biológico dos nematóides dos citros no Estado de São Paulo / Paulo Roberto Pala Martinelli. -- Jaboticabal, 2008
xiii, 1 f. : il. ; 28 cm. Email: prpmartinelli@yahoo.com.br

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008

Orientador: Jaime Maia dos Santos

Banca examinadora: Maria Amélia dos Santos, José Carlos Barbosa

Bibliografia

1. Nematóides dos citros. 2. Controle biológico. 3. Fungos nematófagos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 634.31:632.937

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PAULO ROBERTO PALA MARTINELLI – Nascido em 22 de setembro de 1980, em Taquaritinga – SP. Iniciaram-se os estudos em agronomia 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 Fitonematóides (Bionema/UFV), onde desenvolveu vários trabalhos na área de controle biológico de fitonematóides. Em 2006, ingressou como aluno regular no curso de Mestrado na UNESP/Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal-SP, sendo bolsista do CNPq e, em 2008, iniciará o curso de Doutorado na mesma instituição.

OFEREÇO

A toda minha família, que me apoiou,
principalmente aos meus pais Paulo e Nilda,
pelo apoio incondicional. A minha namorada Luna,
pelo carinho e amor. E a Fabrizia e Niba, pelo apoio.

“Procure ser uma pessoa de valor, em vez de procurar ser
uma pessoa de sucesso. O sucesso é só consequência.”

(Albert Einstein)

“Para aquelas pessoas que pensam em se engrandecer de tal
maneira que passam a desprezar os humanos aqui na terra e
aí o que acontece, vem o papai do céu lá de cima e confisca
tudo. O olho grande acaba com humanidade, por isso”

“HUMILDADE SEMPRE”.

(Falcão)

Dedico

A minha Avó Dione, pelo carinho, amor, ensinamentos e apoio incondicional. Saiba que você, Vó, vai ficar marcada pra sempre na minha vida, como exemplo de humildade, perseverança, dignidade, honestidade e dedicação para conosco. TE AMO ETERNAMENTE.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar forças para superar todos os obstáculos da vida;

Ao 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 do auxílio pesquisa (Processo 2006/58081-2), para a realização deste trabalho;

Aos funcionários do Laboratório de Nematologia André Maurício, Sandra, Valmir, Suélen e Júnior;

Aos amigos e companheiros de pós-graduação Pedro, Bruno, Luciany, Sérgio, Ânderson, Vilmar, Eduardo, Zaparolli, Ivo e Adriana;

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;

A 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 meu grande companheiro Márcio, de momentos difíceis esquecidos com a companheira “cerveja”, primo só cachaça;

Aos companheiros e ex-companheiros de república, Rodrigo (Mandruva), Daniell (Turco Cebola), Marcão (Esmiril Men), Dan Érico (Véio Dan), Danilo (Poca) e Rafael (Peludo);

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

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

À prof^a. Dr^a. Maria Amélia dos Santos, pela confirmação na identificação dos isolados de fungos nematófagos;

Ao prof. Barato Neto pela revisão gramatical desta dissertação;

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

Muito Obrigado!!

ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
APÊNDICES.....	xviii
RESUMO.....	xix
ABSTRACT	xxi
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Referências Bibliográficas	7
CAPÍTULO 2 - FUNGOS NEMATÓFAGOS DETECTADOS EM AMOSTRAS DE SOLO PROVENIENTES DE POMARES DE CITROS DO ESTADO DE SÃO PAULO	15
Resumo	15
Introdução.....	16
Material e Métodos	17
Resultados e Discussão	18
Conclusões	30
Referências Bibliográficas	31
CAPITULO 3 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ASSOCIADOS À <i>Tylenchulus semipenetrans</i> E <i>Pratylenchus jaehni</i>	36
Resumo	36
Introdução.....	36
Material e Métodos	38
Resultados e Discussão	39
Conclusões	43
Referências Bibliográficas	46
CAPITULO 4 - MANEJO DE POPULAÇÕES <i>Tylenchulus semipenetrans</i> EM POMAR CÍTRICO COM UMA FORMULAÇÃO DE CINCO FUNGOS NEMATÓFAGOS E/OU ADUBO ORGÂNICO OU CONDICIONADOR DE SOLO	51
Resumo	51
Introdução.....	52

Material e Métodos	53
Resultados e Discussão	58
Conclusões	75
Referências Bibliográficas	76
CAPITULO 5 - MANEJO DE POPULAÇÕES <i>Pratylenchus jaehni</i> EM POMAR CÍTRICO COM UMA FORMULAÇÃO DE CINCO FUNGOS NEMATÓFAGOS E/OU ADUBO ORGÂNICO OU CONDICIONADOR DE SOLO	
Resumo	81
Introdução	82
Material e Métodos	83
Resultados e Discussão	84
Conclusões	101
Referências Bibliográficas	102

LISTA DE TABELAS

Tabela	Páginas
CAPÍTULO 2	15
1 Espécies de fungos nematófagos isolados de 38 amostras de solo da rizosfera de plantas cítricas em pomares infestados por <i>Tylenchulus semipenetrans</i> e/ou <i>Pratylenchus jaehni</i> no Estado de São Paulo.....	19
2 Porcentagem da capacidade predatória de 26 isolados de fungos nematófagos a <i>T. semipenetrans</i> <i>in vitro</i> após diferentes tempos de avaliação	20
3 Porcentagem da capacidade predatória de 26 isolados de fungos nematófagos à <i>Pratylenchus jaehni</i> <i>in vitro</i> após diferentes tempos de avaliação.....	27
4 Distribuição dos fungos nematófagos em amostras de solo de pomares de citros infestados por <i>Tylenchulus semipenetrans</i> e <i>Pratylenchus jaehni</i> no Estado de São Paulo.....	28
CAPÍTULO 4	51
1 Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> , nas raízes de plantas de laranja 'Pêra, pelos testes F coincidência e T paralelismo.....	59
2 Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de ovos de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', pelo teste F, comparando a coincidência das retas	59
3 Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de ovos de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> , nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', pelo teste T, comparando o paralelismo das retas.....	60
4 Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> no solo, de plantas de laranja 'Pêra', pelos testes F coincidência e T paralelismo.....	60
5 Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de ovos de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> no solo, de plantas de laranja 'Pêra', pelos testes F coincidência e T paralelismo.....	60
CAPÍTULO 5	81

1	Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de <i>Pratylenchus jaehni</i> , nas raízes de plantas de laranja 'Pêra, pelo teste F coincidência das retas	84
2	Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de <i>Pratylenchus jaehni</i> , nas raízes de plantas de laranja 'Pêra, pelo teste T paralelismo das retas	85
3	Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de <i>Pratylenchus jaehni</i> no solo, de plantas de laranja 'Pêra', pelos testes F coincidência e T paralelismo das retas	85

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Páginas
CAPÍTULO 2	15
1 Fotomicrografias dos conídios e conidióforos de fungos nematófagos isolados em amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Conídios e conidióforos de <i>Arthrobotrys oligospora</i> ; B) Conídios de <i>A. oligospora</i> ; C) Conidióforo de <i>A. robusta</i> ; D) Conídios de <i>A. robusta</i> ; E) Conidióforo de <i>A. musiformis</i> ; F) Conídios de <i>A. musiformis</i>	21
2 Fotomicrografias dos conídios e conidióforos de fungos nematófagos isolados de amostra de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Conidióforos e conídios de <i>Arthrobotrys conoides</i> ; B) Conídios de <i>A. conoides</i> ; C-D) Conídios de <i>Monacrosporium eudermatum</i> ; E-F) Conídios de <i>Monacrosporium elegans</i>	22
3 Fotomicrografias dos conídios, conidióforos e órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A-B) Conídios de <i>Dactylella leptospora</i> ; C) Fiálide e conídios de <i>Paecilomyces lilacinus</i> ; D) Ovo de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> parasitado por <i>P. lilacinus</i> ; E) Fêmea de <i>T. semipenetrans</i> parasitada por <i>P. lilacinus</i> ; F) <i>T. semipenetrans</i> capturado em rede adesiva de <i>A. oligospora</i>	23
4 Fotomicrografias dos órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Espécime de <i>Tylenchulus semipenetrans</i> capturado por rede adesiva tridimensional de <i>Arthrobotrys robusta</i> ; B) <i>T. semipenetrans</i> capturado por <i>A. musiformis</i> ; C) <i>Pratylenchus jaehni</i> capturado por <i>A. robusta</i> ; D) <i>P. jaehni</i> capturado por <i>A. musiformis</i> ; E) Redes bidimensional de <i>M. eudermatum</i> ; F) Fêmea de <i>T. semipenetrans</i> com ovos parasitados por <i>P. lilacinus</i>	24
CAPÍTULO 3	36
1 Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Aspecto geral do meio de cultura B) Conidióforo de <i>A. musiformis</i> ; C) <i>Pratylenchus jaehni</i> capturado pelo anel	

	constritor de <i>Dactylella leptospora</i> ; D) Detalhe do anel constritor de <i>D. leptospora</i> ; E) Conídio de <i>Monacrosporium elegans</i> ; D) <i>P. jaehni</i> capturado por <i>M. elegans</i>	41
2	Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Início da anastomose da rede adesiva de <i>Arthrobotrys robusta</i> ; B) Detalhe do nematóide <i>P. jaehni</i> capturado por <i>A. robusta</i> ; C) Conídio <i>A. musiformis</i> ; D) <i>P. jaehni</i> capturado por <i>A. musiformis</i> ; E) Conídio de <i>A. oligospora</i> ; F) <i>P. jaehni</i> capturado por <i>A. oligospora</i>	42
3	Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) <i>Tylenchulus semipenetrans</i> capturado por <i>Monacrosporium elegans</i> ; B) Rede bidimensional de <i>M. elegans</i> ; C) Órgãos de captura de <i>Arthrobotrys oligospora</i> ; D) <i>T. semipenetrans</i> capturado por <i>A. oligospora</i> ; E) <i>T. semipenetrans</i> capturado por <i>M. eudermatum</i> ; F) Conídio de <i>M. eudermatum</i>	44
4	Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) <i>Tylenchulus semipenetrans</i> capturado por <i>Arthrobotrys robusta</i> ; B) Conídios de <i>A. robusta</i> ; C) Conídios de <i>A. musiformis</i> ; D) <i>T. semipenetrans</i> capturado por <i>A. musiformis</i> ; E-F) <i>T. semipenetrans</i> capturado por <i>A. conoides</i>	45
CAPÍTULO 4		51
1	Formulação do composto para produção massal dos fungos nematófagos (1L de bagaço de cana-de-açúcar, 500 mL de farelo de arroz e 200 mL de água)	55
2	Formulação pronta para ser inoculada com os fungos nematófagos	56
3	Formulação colonizada pelos fungos, pronta para aplicação no campo.....	56
4	Aplicação do substrato no campo, antes da incorporação.....	57
5	Incorporação do substrato no solo, após a aplicação	57
6	Cobertura do solo com bagaço de cana, após aplicação da formulação dos cinco fungos e os outros tratamentos	58
7	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência' na dose zero (Testemunha), no período de 90 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide, em pomar comercial.....	61

8	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência' na dose zero (Testemunha), no período de 90 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide, em pomar comercial.....	61
9	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência' na dose de 1 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	62
10	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 1 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	63
11	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', na dose de 2 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	64
12	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 2 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	64
13	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	65
14	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	66
15	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos	

nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	67
16 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	68
17 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com aldicarb (Temik® 150G), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	68
18 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com aldicarb (Temik® 150G), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	69
19 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	70
20 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial...	71
21 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	72
22 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	72
23 Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.	73

24	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	73
25	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial... ..	74
26	Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de <i>T. semipenetrans</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.. ..	75
CAPÍTULO 5		81
1	Curva de tendência da população de <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose zero (Testemunha), no período de 120 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide, em pomar comercial. ...	86
2	Curva de tendência da população de <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose zero (Testemunha), no período de 120 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide, em pomar comercial	86
3	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 1 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	87
4	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 1 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	88
5	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 2 L da formulação de cinco fungos	

nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	89
6 Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 2 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	89
7 Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	91
8 Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	91
9 Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	92
10 Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial	92
11 Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com aldicarb (Temik® 150G), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial	94
12 Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com aldicarb (Temik® 150G), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial	94

13	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	95
14	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	96
15	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	97
16	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.....	98
17	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.	99
18	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.	99
19	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.	100
20	Curva de tendência da população de espécimes <i>Pratylenchus jaehni</i> na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da	

formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.101

APÊNDICES

	Páginas
1 Resultado da análise química do solo da cultura de laranjeira variedade Valência da Fazenda São Sebastião, Monte Alto-SP, área experimental.....	107
2 Resultado da análise química do solo da cultura de laranjeira variedade Valência da Fazenda das Antas, Itápolis-SP, área experimental.....	107

ESTUDO DO CONTROLE BIOLÓGICO DOS NEMATÓIDES DOS CITROS NO ESTADO DE SÃO PAULO

RESUMO - Embora numerosas espécies de fitonematóides já tenham sido encontradas em pomares de citros em todo o mundo, poucas são consideradas pragas-chave da cultura. No Brasil, apenas o nematóide dos citros (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) e o nematóide das lesões radiculares dos citros (*Pratylenchus jaehni* Inserra et al.) detêm esse status. Entre esses, *T. semipenetrans* é o mais distribuído, enquanto *P. jaehni* é o mais agressivo. Essa praga já foi encontrada em pomares de mais de 30 municípios paulistas, dois mineiros e três paranaenses. O objetivo deste estudo foi isolar, identificar, documentar ao microscópio fotônico e eletrônico de varredura e avaliar a eficácia de fungos nematófagos para o controle biológico dos nematóides dos citros (*P. jaehni* e *T. semipenetrans*). Foram analisadas 38 amostras coletadas em pomares de citros de municípios paulistas e goiano no Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP. Dessas amostras, foram isolados *Arthrobotrys robusta* de 23,7% das amostras, *A. musiformis* de 18,4%, *A. oligospora* de 10,5% e *A. conoides* de 5,2%. *Monacrosporium elegans*, *M. eudermatum*, *Dactylella leptospora* e *Paecilomyces lilacinus* foram encontrados em 2,6% das amostras. Do total de 26 isolados dos fungos obtidos, 92,8% foram patogênicos a *T. semipenetrans* e 82,1% a *P. jaehni*. Um isolado de cada espécie desses fungos foi incluído na documentação das características mais marcantes ao microscópios fotônico e eletrônico de varredura. Em testes *in vitro*, foram selecionados isolados de cinco espécies de fungos nematófagos, sendo *Monacrosporium eudermatum*, *Dactylella leptospora*, *Arthrobotrys musiformis*, *A. conoides* e *Paecilomyces lilacinus* formulados para *T. semipenetrans*. Para *P. jaehni*, foram formulados *Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum*. Esses fungos foram aplicados nas doses de 1, 2, 4 e 6 L da formulação por planta. A formulação foi constituída por partes iguais da mistura de bagaço de cana-de-açúcar com farelo de arroz, colonizada individualmente pelos fungos. Os testes foram conduzidos a campo, em pomares de laranja 'Valência' e 'Pêra', infestados por *T.*

semipenetrans e *P. jaehni*, respectivamente. O tratamento com aldicarb, na dosagem de 130 g por árvore, foi incluído como comparativo. Os tratamentos relativos a 1 L da formulação mais 200 g do adubo orgânico AO- 15/planta e 1 L da formulação mais 4 L de Agrolmin AH/planta, também foram incluídos no estudo. A formulação de cinco fungos nematófagos em citros propiciou maior eficácia no controle dos nematóides que o tratamento com aldicarb, em todas as doses testadas para ambos os nematóides. A aplicação da formulação dos fungos nematófagos, em mistura com Agrolmin AH ou com o adubo orgânico AO-15, não aumentou a eficiência do tratamento com os fungos no controle biológico dos nematóides dos citros.

Palavras-chave: Controle biológico, nematóide dos citros, fungos nematófagos, microscopia eletrônica de varredura.

STUDY OF BIOLOGICAL CONTROL OF THE CITRUS NEMATODE IN SÃO PAULO STATE

ABSTRACT - Although many species of nematodes have already been found in orchards of citrus in the world, few are considered key pests of the culture. In Brazil, only the citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) and the lesion nematode of citrus (*Pratylenchus jaehni* Inserra et al.) have that status. Between these, *T. semipenetrans* is more distributed, but *P. Jaehni* is the most aggressive. This pest has been found in orchards of more than 30 counties in São Paulo State, two in Minas Gerais and three in Paraná State. The aim of this study was to isolate, identify, document and assess the effectiveness of nematophagous fungi for the biological control of the citrus nematode (*P. jaehni* and *T. semipenetrans*). Were analyzed 38 samples collected in the citrus orchards of Counties of São Paulo State and one in Goiás, in Laboratório de Nematologia of UNESP/FCAV, Câmpus of Jaboticabal, SP. From these samples were isolated *Arthrobotrys robusta*, 23.7% of the samples, *A. musiformis* 18.4%, *A. oligospora* 10.5% in *A. conoides* 5.2%. *Monacrosporium elegans*, *M. eudermatum*, *Dactylella leptospora* and *Paecilomyces lilacinus* were found in 2.6% of samples. From a total of 26 isolates of the fungi obtained, 92.8% were pathogenic to *T. semipenetrans* and 82.1% to *P. Jaehni*. An isolate from each species of these fungi was included in the documentation of the most remarkable characteristics at the light microscope and scanning electron microscope. In tests in vitro were selected five isolates of nematophagous fungi being *Monacrosporium eudermatum*, *Dactylella leptospora*, *Arthrobotrys musiformis*, *A. conoides* and *Paecilomyces lilacinus* formulated for *T. Semipenetrans*. For, *P. Jaehni* were formulated *Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* and *Monacrosporium eudermatum*. These fungi have been applied in doses of 1, 2, 4 and 6 liters of a formulation consisting of equal parts of mixing the sugar cane bagasse with rice bran individually colonized by fungi per plant. The tests were conducted in the field, orchards, orange 'Valencia' and 'Pera' infested by *T. Semipenetrans* and *P. Jaehni* respectively. Treatment with aldicarb in the dosage of 130 g per tree was included as a comparison. Treatments on the 1 liter

of the more 200 g of organic fertilizer AO-15/planta and 1 liter of the more 4 litres of Agrolmin AH/plant, were also included in the study. The formulation of five nematophagous fungi in citrus provided more effectively in control of nematodes that treatment with aldicarb, at all doses tested for both nematodes. The application of the formulation of nematophagous fungi in a mixture with Agrolmin AH or with the organic fertilizer AO-15 does not increase the efficiency of treatment with the fungi in the biological control of nematodes in citrus.

Key-words: Biological control, citrus nematodes, nematophagous fungus, scanning electron microscope.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os citros são as frutas mais produzidas no mundo, num volume de 24% da produção total, superando uva, banana e maçã. No ano agrícola de 2006/2007, a produção nacional foi estimada em aproximadamente 442 milhões de caixas (40,8 kg), e o Estado de São Paulo foi responsável por cerca de 80% desse total (CEPEA/USP, 2007).

O valor da produção nacional de laranja, em 2006, foi de R\$ 5,3 bilhões, concentrando 5,4% dos recursos financeiros gerados pela agricultura nacional, que somaram R\$ 98,3 bilhões no ano de 2006 (ABECITRUS, 2007). Dentre as laranjas-doce cultivadas no Estado, a variedade Pêra é a principal, sendo responsável por 43% do total das laranjeiras existentes, ou seja, quase 97 milhões de árvores em formação e produção.

Segundo NEVES & BOTEON (1998), as indústrias de suco concentrado de laranja para exportação comercializam, anualmente, cerca de 85% da produção paulista. No mundo, a cada dez copos de suco de laranja consumidos, oito são de laranja de procedência brasileira, e o Estado de São Paulo é responsável por 98% da produção total.

Além da importância econômica, a citricultura paulista também tem uma grande função social, pois as atividades desse agronegócio geram cerca de 400 mil empregos diretos e indiretos (NEVES & BOTEON, 1998).

No entanto, a cultura dos citros é uma das que apresentam maior número de pragas. Contudo, poucas são as consideradas de importância econômica para a cultura (GRAVENA, 1984). Os nematóides *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, conhecido como “o nematóide dos citros”, causador da doença chamada “declínio lento dos citros” e *Pratylenchus jaehni* Inserra et al., “o nematóide das lesões radiculares dos citros”, são pragas-chave da cultura no Brasil (SANTOS et al., 2006). Em outras regiões produtoras do mundo, pelo menos 10 espécies de nematóides são citadas como pragas-chave da cultura (DUNCAN & COHN, 1990). As perdas causadas pelo ataque de nematóides na citricultura mundial são estimadas em 14,2% (SASSER & FRECMAN, 1987). Estimativas de CORBANI (2002), para perdas causadas por *T. semipenetrans* no Brasil

na safra de 1999/00, ultrapassaram R\$ 315 milhões de reais. Em estudos de danos causados por *P. jaehni*, no Município de Itápolis-SP, TERSI et al. (1995) constataram que, em um talhão infestado pelo nematóide, a produção foi cerca de três vezes menor do que em talhões não-infestados pela praga.

Nos últimos anos, a utilização do manejo integrado de pragas, explorando a combinação de várias medidas de controle, experimentou um grande avanço no Brasil. Para o manejo de nematóides, notadamente em culturas anuais, os produtores utilizam, como principais práticas de manejo, a rotação de culturas, o uso de nematicidas, a adição de matéria orgânica e o controle biológico, entre outros (CORBANI, 2002). Contudo, por tratar-se de uma cultura perene, a rotação de cultura limita-se somente à renovação de pomares. Os porta-enxertos resistentes aos nematóides dos citros, no Brasil, têm o inconveniente de ser mais suscetíveis à seca (CALZAVARA, 2007). A adição de matéria orgânica baseia-se na condução e manejo dos pomares, principalmente no manejo das plantas daninhas que, se bem manejadas, podem melhorar significativamente as características biológicas do solo (BERTONI & LOMBARDI NETO, 1990). O manejo com produtos químicos, além de encarecer a produção, tem o inconveniente dos riscos ecotoxicológicos.

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).

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

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

O aumento do interesse pelo controle biológico de nematóides ocorreu após a demonstração de que algumas espécies de fungos endoparasitos impediram o aumento

da população de diferentes espécies de nematóides (JATALA et al., 1981; KERRY et al., 1982). No Brasil, os primeiros relatos envolvendo o controle biológico de nematóides foram feitos por ALCANTARA & AZEVEDO (1981), isolando fungos a partir de nematóides infectados.

Os fungos nematófagos podem ser classificados de acordo com as estratégias utilizadas para capturar os nematóides em endoparasitos e predadores. Os endoparasitos infectam os nematóides, penetrando pelas aberturas naturais dos seus corpos. Os predadores capturam os nematóides utilizando hifas modificadas na forma de armadilhas. Os oportunistas ou ovicidas parasitam ovos e cistos e, por último, aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides (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 nematóides (DIJKSTERHUIS et al., 1990; SIDDIQUI & MAHMOOD, 1996). Esses fungos produzem estruturas especializadas para a captura dos nematóides, ao longo das hifas, genericamente referidas como armadilhas. Essas armadilhas podem ser adesivas ou não (NORDBRING-HERTZ, 1972) e aprisionam os nematóides. Após a captura, independentemente da armadilha utilizada, as hifas penetram na cutícula, colonizam e consomem o conteúdo interno dos nematóides. 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 nematóides (NORDBRING-HERTZ, 1973), escassez de água e/ou nutrientes (BALAN & GERBER, 1972), motilidade, uma vez que, quanto maior for a motilidade dos nematóides, maior o estímulo para o fungo produzir

armadilhas (JANSSON & NORDBRING-HERTZ, 1980), e o chamado ritmo endógeno, onde as hifas vegetativas, ao crescerem, são ritmicamente predispostas para a produção dessas armadilhas (LYSEK & NORDBRING-HERTZ, 1981).

São conhecidos sete tipos de armadilhas: redes adesivas tridimensionais, redes adesivas bidimensionais, nódulos adesivos, ramos adesivos, anéis constritores constituídos por três células que se dilatam e estrangulam o nematóide, anéis não-constritores, cujas células que os formam, não se dilatam e as hifas adesivas não modificadas, as quais se aderem ao corpo dos nematóides. Além desses tipos de armadilhas, também ocorre a penetração direta do fungo pela cutícula do nematóide, envolvendo ação mecânica (pressão), além de algumas variantes dessas armadilhas, conforme ilustrado por MAIA (2000) e SOARES & SANTOS (2006).

Os fungos nematófagos predadores podem apresentar conídios de diferentes tamanhos, coloração, forma e resistência a condições adversas do ambiente. A maioria dos fungos nematófagos apresenta conídios secos, emergindo de estruturas de frutificação denominadas conidióforos, essenciais na dispersão dos conídios. Os conidióforos crescem verticalmente, em direção perpendicular ao substrato utilizado no cultivo do isolado. Algumas espécies podem produzir estruturas denominadas de clamidósporos, que são estruturas de parede espessa, diferenciada a partir de hifas, que aparecem em condições de estresse extremo e podem dar origem a hifas, conidióforos e conídios (BARRON, 1977).

Os fungos oportunistas ou ovicidas estão entre os mais promissores. Como os fungos predadores, destacam-se pela facilidade de estabelecerem-se no solo e crescimento *in vitro*. Também exibem acentuado crescimento na rizosfera, onde cistos e ovos são liberados e tornam-se vulneráveis à deterioração e colonização por diferentes agentes, despertando interesse de vários pesquisadores. Os fungos ovicidas consomem todo o conteúdo dos ovos. Ao estabelecer um contato com o ovo, as hifas fixam-se na parede externa e produzem quitinase, rompendo o complexo quitina-proteína, possibilitando a penetração e a colonização de todo o conteúdo interno (BARRON, 1977). Acredita-se que os fungos parasitos de ovos sejam mais eficazes no biocontrole de nematóides que outros grupos. Apesar de um expressivo número de fungos parasitos de ovos serem conhecidos, apenas *Paecilomyces lilacinus* (Thorn)

Samson e *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams têm sido muito estudados por diversos pesquisadores, devido a sua comprovada eficácia (MANKAU, 1980; JATALA et al., 1980b; SIDDIQUI & MAHMOOD, 1995; ATKINS et al., 2003).

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 de *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 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 nematóides dos citros, na Flórida, isolaram 24 microrganismos antagonistas aos nematóides, 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 espinhola 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 do nematóide. Em estudo de patogenicidade *in vitro* de *T. semipenetrans* por *A. musiformis*, *A. robusta*, *A. conoides* e *A. oligospora*, 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 no

controle dessa praga. Também, testando *Monacrosporium* sp. e *Dactylella* sp., *in vitro*, demonstraram o potencial dessas duas espécies no controle biológico de *P. jaehni*.

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 nematóide, nas raízes, foi obtida com óleo de mamona + *P. lilacinus*.

REDDY et al. (1996a), utilizando óleos de mamona (*R. communis*) de karanj (*P. pinnata*) e óleo de neem (*A. indica*), 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 óleo de mamona + *T. harzianum*, na dose de 20g + 2g, 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 carbofuran 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*. O potencial de outros fungos nematófagos também tem sido avaliado. 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 nematóide 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 nematóide.

SPIEGEL et al. (1989) utilizaram um produto à base de quitina, denominado ClandoSan (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-enxerto de citros.

A utilização sistemática de nematicidas tem causado preocupações, dada a alta toxicidade desses produtos e os riscos que oferecem quanto ao impacto ambiental. De fato, problemas relativos à interferência desses produtos na saúde humana, persistência no solo, contaminação do lençol freático e resíduo nos produtos colhidos têm sido apontados (KERRY, 1987) e fazem com que investimentos em pesquisas na busca de alternativas com menor impacto ambiental estejam sendo enfatizados em todo o mundo. O controle biológico por meio do emprego de microrganismos é uma alternativa promissora.

O objetivo do trabalho foi isolar, identificar, documentar ao microscópio fotônico e eletrônico de varredura, e avaliar a eficácia de fungos nematófagos para o controle biológico a campo dos nematóides dos citros (*P. jaehni* e *T. semipenetrans*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ABECITRUS. <http://www.abecitrus.com.br/clipping.asp#clip4> consultado em, 11 de dezembro de 2007.

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

ATKINS, S. D.; HIDALGO-DIAZ, L.; KALISZ, H. MAUCLINE, T. H.; HIRSCH, P. R.; KERRY, B. R. Development of a new management strategy for the control of root-knot

nematode (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. **Pest Management Science**, Brighton, v. 59, p. 183-189, 2003.

BALAN, J.; GERBER, N. Attraction and killing of nematode *Panagrellus redivivus* by the predaceous fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Nematologica**, Leithen, v. 18, n. 1, p. 163-173, 1972.

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

BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do solo**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1990. 392p.

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**. v. 58, p. 43-50, 1966.

CALZAVARA, S. A. **Descrição dos sintomas de laranjeiras infectadas por *Pratylenchus jaehni*, resistência de porta-enxertos, estudo da faixa de hospedeiros e desenvolvimento de plantas jovens inoculadas com o nematóide em microparcels**. 2007, 55 f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

CARNEIRO, R. M. D. G. Princípios e tendências do controle biológico de nematóides com fungos nematófagos. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v. 27, n. s, p. 113-121, 1992.

CEPEA/USP. (<http://cepea.esalq.usp.br>) consultada em, 11 de dezembro de 2007.

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 2002. 44 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em

Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2002.

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

DIJKSTERHUIS, J.; VEENHUIS, M.; HARDER, W. Ultrastructural study of adhesion and initial stages of infection of nematodes by conidia of *Drechmeria coniospora*. **Mycological Research**, Madri, v. 94, p. 1-8, 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, UK. 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**, Laurence, v. 21, n. 3, p. 431-3, 1989.

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

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.

GRAVENA, S. Manejo integrado de pragas dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, n. 5, p. 323-362, 1984.

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.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Interactions between nematophagous fungi and plant-parasitic nematodes: attraction, induction of trap formation and capture. **Nematológica**, Leithen. v. 26, p. 383-389, 1980.

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

JATALA, P.; KAELTENBACH, M.; BOCANGEL, D. A. J. Field application of *Paecilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. **Journal of Nematology**, Laurence, v. 12, p. 226-227, 1980. Abstract.

JATALA, P.; SALAS, R.; BOCANGEL, M. Multiple application na 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. Biological control. *In*: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (eds.). **Principles and practice of nematode control in crops**. Sydney: Academic Press, 1987. p. 233-263.

KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal cyst-nematode, *Heterodera avenae* under continuous cereals, 1975-78. II Fungal parasitism of nematode female and eggs. **Ann. Appl. Biol.**, 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.

MAIA, A. S. **Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines***. 2000. 117 f. Tese (Doutorado Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

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**, Laurence, v. 12, n. 4, p. 244-252, 1980.

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 *Arthrobotrys* 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, 2007. p. 53c.

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

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, 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.

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.

NORDBRING-HERTZ, B. Peptide-induced morphogenesis in the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Physiologia Plantarum**, Frederiksberg, v. 29, p. 223-233, 1973.

OSMAN, G. Y.; SALEM, F. M. Bio-efficacy of sinconcin AGTM to control *Tylenchulus semipenetrans* (Tylenchida, Nematoda) in citrus orchard. **Anzeiger für 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-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.

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, 2006. p. 607-625.

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

SIDDIQI, Z. A.; MAHMOOD, I. Some observations on the management of the wilt disease complexo f pigeonpea by treatment with vesicular arbuscular fungus and biocontrol agents for nematodes. **Bioresource Technology**. College Station, v. 54, p. 1.204-1.206, 1995.

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.; SANTOS, J. M. dos. **Utilização de fungos nematófagos no controle biológico de fitonemátóides**. In: BORTOLI, S. A. de; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; OLIVEIRA, J. E. de M. Agentes de controle biológico: metodologia de criação, multiplicação e uso. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 1-59.

SOARES, P. L. M. **Estudos do controle biológico de fitonemátóides 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**, Laurence, v. 21, n. 1, p. 419-422, 1989.

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.

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

CAPITULO 2 - FUNGOS NEMATÓFAGOS DETECTADOS EM POMARES DE CITROS DO ESTADO DE SÃO PAULO

RESUMO

Em estudos realizados no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP, Câmpus e Jaboticabal – SP, foram utilizadas 38 amostras de pomares de citros dos municípios paulistas de Taquaritinga, Taquaral, Monte Alto, Bebedouro, Itápolis, Cândido Rodrigues e Goiânia – GO, enviadas ao Laboratório para análise nematológica ou coletadas pela equipe do Laboratório para o estudo da flora de fungos nematófagos. Todos os pomares estavam infestados por *Tylenchulus semipenetrans* e/ou por *Pratylenchus jaehni*. As principais espécies isoladas foram do gênero *Arthrobotrys*, sendo a freqüência de *Arthrobotrys robusta* de 23,7% das amostras, *A. musiformis* 18,4%, *A. oligospora* 10,5% e *A. conoides* 5,2%. *Monacrosporium elegans*, *M. eudermatum*, *Dactyllela leptospora* e *Paecilomices lilacinus* foram encontrados em 2,6% das amostras. Do total de 26 isolados dos fungos obtidos, 92,8% foram patogênicos a *T. semipenetrans* e 82,1% a *P. jaehni*. A capacidade predatória dos isolados variou entre espécies e entre os isolados de uma mesma espécie. Os isolados que exibiram maior capacidade predatória *in vitro* de *T. semipenetrans* foram *A. oligospora* PPM-1, *A. oligospora* PPM-2, *A. musiformis* PPM-2, *A. musiformis* PPM-5, *A. robusta* PPM-1, *A. robusta* PPM-2, *M. eudermatum*, *M. elegans* e *D. leptospora*. Para *P. jaehni*, os isolados *M. eudermatum*, *M. elegans*, *D. leptospora*, *A. oligospora* PPM-2, *A. oligospora* PPM-1, *A. robusta* PPM-3 e *A. musiformis* PPM-4 foram os mais eficazes.

Palavras-chave: nematóide dos citros, nematóide das lesões radiculares dos citros; fungos nematófagos, controle biológico; *Arthrobotrys* spp.; *Monacrosporium* spp.

INTRODUÇÃO

Entre os vários nematóides associados às plantas cítricas, em todo o mundo, cerca de 10 espécies são consideradas pragas-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 nematóides ainda não tenham sido quantificadas, apenas essas duas espécies estão associadas a danos expressivos à cultura no Estado de São Paulo (SANTOS et al., 2006).

As estimativas das perdas causadas por nematóides à produção mundial dos citros são estimadas em 14,2% (SASSER & FRECKMAN, 1987). Entretanto, em certos locais, essas perdas podem ser muito maiores. TERSI et al. (1995) constaram 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 nematóide, tanto no Brasil como no mundo (BARRON & THORN, 1987; SANTOS, 1991; MAIA et al., 2001; CORBANI, 2002; MARTINELLI & SANTOS, 2007abc). Numerosos microrganismos já foram encontrados associados a *T. semipenetrans*, tais como espécies de fungos predadores (STIRLING & MANKAU, 1978; GASPARD & MANKAU, 1986; WALTER & KAPLAN, 1990; RACCUZO et al., 1992) e as bactérias hiperparasitas *Pasteuria* spp. (FATTAH et al., 1989; WALTER & KAPLAN, 1990; SORRIBAS et al., 2000). Entretanto, entre esses microrganismos, cerca de 75% são fungos da biota dos solos agricultáveis (JATALA, 1986; VAN GUNDY, 1985, citado por SANTOS, 1991; STIRLING, 1991).

Quanto à *P. jaehni*, os estudos sobre os inimigos naturais ainda são incipientes em razão de a espécie ter sido descrita mais recentemente (INSERRA et al., 2001). MARTINELLI & SANTOS (2007c) isolaram algumas espécies de *Arthrobotrys*, *Monacrosporium* e *Dactyllela* associados a *P. jaehni* em pomares de citros do Estado de São Paulo e estão testando esses agentes do controle biológico desse nematóide a campo.

O objetivo deste trabalho foi isolar fungos nematófagos da rizosfera de pomares cítricos infestados por *T. semipenetrans* e *P. jaehni*, identificá-los, documentá-los ao microscópio fotônico e avaliar a capacidade predatória desses agentes *in vitro*, a ambos os nematóides.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo. Foram utilizadas 38 amostras de vários pomares de citros dos municípios de Taquaritinga, Taquaral, Monte Alto, Bebedouro, Itápolis, Cândido Rodrigues e Goiânia – GO, para o estudo.

A detecção e o isolamento dos fungos foram efetuados pelo método de espalhamento de solo, segundo BARRON (1977), modificado por SANTOS (1991). Em placas de Petri (100 x15 mm), contendo ágar-água a 2%, foram colocados 1 – 2 g de solo das amostras, no centro das placas. Em seguida, foi adicionado 1 mL de suspensão contendo, aproximadamente, 5.000 nematóides de vida-livre (*Panagrellus* sp.) que serviram de isca para os fungos. Foram preparadas 3 repetições por amostra. Essas culturas foram incubadas à temperatura ambiente, no escuro. As observações foram efetuadas diariamente, com auxílio de um estereoscópio, a partir de 2 dias após o início do período de incubação, durante 1 semana. Depois dessa primeira semana, foram efetuadas observações semanais, durante 2 meses. Para detecção de *Paecilomyces lilacinus*, foi utilizado suspensão de *T. semipenetrans* ao invés de *Panagrellus* sp. Os fungos isolados foram mantidos em placas de Petri (de 100 x 15 mm) contendo o meio de cultura BDA (batata dextrose ágar).

Os testes para avaliação da capacidade predatória dos fungos foram conduzidos nas placas mencionadas contendo ágar-água a 2%. Discos de 5 mm de diâmetro, retirados dos bordos das colônias dos fungos isolados, foram depositados no centro de cada placa, sendo adotadas três repetições para todos os isolados. Essas culturas foram incubadas, a seguir, em câmara tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), à temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$, no escuro, por 5 dias. Após esse período, adicionaram-se

100 espécimes de *T. semipenetrans* ou de *P. jaehni* por placa e avaliou-se a capacidade predatória dos isolados diariamente, durante um período de 72 horas, determinando-se a percentagem de nematóides predados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se do software ESTAT 2.0 (BARBOSA, 1992).

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), que levam em consideração os tipos de órgãos de captura, formato e tamanho dos conídios, além dos tipos de conidióforos formados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos nematófagos estavam presentes em 68,4% das amostras de solo de pomares infestadas por *T. semipenetrans* (Tabela 1), sendo que 92,8 % desses isolados foram patogênicos ao nematóide (Figuras 1abcd). Esses resultados assemelham-se aos dados obtidos GENÉ et al. (2005), de amostras de solo de pomares de citros da Catalunha, Espanha. De fato, esses autores encontraram fungos nematófagos em 69% das amostras analisadas.

As espécies mais abundantes foram do gênero *Arthrobotrys* Corda, tendo sido *A. robusta* Dudd (Figura 1 C-D) a espécie mais freqüente nas amostras (23,7%), seguida de *A. musiformis* Drechsler (Figura 1 E-F), em 18,42% delas, *A. oligospora* Fresenius (Figura 1 A-B), em 10,5% e *A. conoides* Drechsler (Figura 2 A-B), em 5,26%. Espécies de outros grupos também foram encontradas em 2,63% das amostras analisadas, a saber: *Monacrosporium elegans* Oudem (Figura 2 E-F), *M. eudermatum* Drechsler (Figura 2 C-D), *Dactyllela leptospora* Grove (Figura 3 A-B) e *Paecilomyces lilacinus* Thorn (Figura 3 C-D, Figura 3 E e Figura 4 F). 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). No Brasil, em estudos envolvendo a detecção de fungos nematófagos da rizosfera de outras culturas, essas espécies também foram muito freqüentes (RIBEIRO et al., 1999; MAIA, 2000).

Tabela 1: Espécies de fungos nematófagos isolados de 38 amostras de solo da rizosfera de plantas cítricas em pomares infestados por *Tylenchulus semipenetrans* e/ou *Pratylenchus jaehni* no Estado de São Paulo.

Espécies Identificadas	% de detecção	Patogênicas a	
		<i>T. semipenetrans</i>	<i>P. jaehni</i>
<i>Arthobotrys conoides</i>	5,26	+	±
<i>Arthobotrys musiformis</i>	18,42	+	+
<i>Arthobotrys oligospora</i>	10,5	+	±
<i>Arthobotrys robusta</i>	23,7	+	±
<i>Dactylella leptospora</i>	2,63	+	+
<i>Monacrosporium elegans</i>	2,63	+	+
<i>Monacrosporium eudermatum</i>	2,63	+	+
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	2,63	+	-
% de pomares com fungos	68,4	92,8	82,1
% de pomares sem fungos	31,6	7,2	17,9
Total	100,0		

+ Todos os isolados predaram os nematóides; ± Alguns isolados da espécie não predaram os nematóides; - não foi feito teste para *P. jaehni*.

Na Tabela 2, observam-se as espécies e as porcentagens de predação dos 26 isolados dos fungos nematófagos associados a *T. semipenetrans*, nos três tempos avaliados. Os dados da Tabela 2 estão de acordo com os resultados dos estudos de CORBANI et al. (2001ab), que comprovaram a predação de *T. semipenetrans* por *A. oligospora* e *M. robustum*.

Os isolados PPM-1, PPM-2, PPM-3, PPM-4, PPM-5, PPM-6 e PPM-7 de *A. musiformis* tiveram comportamento muito semelhante nas avaliações de 72 horas, na predação de *T. semipenetrans* (Tabela 2). Nos isolados PPM-1 a PPM-8 de *A. robusta*, nas avaliações 24 e 48 h após a adição dos nematóides às culturas dos fungos, não diferiram significativamente entre si. Entretanto, no tempo de 72 h, o isolado PPM-4 exibiu a menor porcentagem de predação (53,2%), diferindo dos demais isolados.

Tabela 2: Porcentagem da capacidade predatória de 26 isolados de fungos nematófagos a *T. semipenetrans* *in vitro* após diferentes tempos de avaliação.

Isolados	porcentagem de espécimes predados		
	24 h	48 h	72 h
<i>A. musiformis</i> PPM-1	61,1 ab	77,9 ab	80,6 a
<i>Arthrobotrys musiformis</i> PPM-2	62,5 a	80,9 ab	90,5 a
<i>A. musiformis</i> PPM-3	62,3 a	75,7 abc	78,8 a
<i>A. musiformis</i> PPM-4	60,7 ab	76,9 ab	88,7 a
<i>A. musiformis</i> PPM-5	27,3 abc	62,7 abc	80,3 a
<i>A. musiformis</i> PPM-6	44,1 ab	56,9 abc	75,3 ab
<i>A. musiformis</i> PPM-7	59,9ab	75,7 ab	79,5 a
<i>A. robusta</i> PPM-1	61,3 ab	75,0 abc	84,1 a
<i>A. robusta</i> PPM-2	42,9 ab	74,3 abc	85,5 a
<i>A. robusta</i> PPM-3	39,5 ab	85,5 a	88,9 a
<i>A. robusta</i> PPM-4	38,1 ab	41,6 c	53,1 b
<i>A. robusta</i> PPM-5	34,1 abc	49,9 bc	77,5 a
<i>A. robusta</i> PPM-6	50,2 ab	50,7 bc	65,6 ab
<i>A. robusta</i> PPM-7	41,1 ab	55,8 abc	79,4 a
<i>A. robusta</i> PPM-8	33,7 abc	68,2 abc	90,3 a
<i>A. oligospora</i> PPM-1	59,8 ab	81,4 abc	89,5 a
<i>A. oligospora</i> PPM-2	60,2 ab	78,7 ab	90,2 a
<i>A. oligospora</i> PPM-3	2,4 cd	2,4 d	2,4 c
<i>A. oligospora</i> PPM-4	0 d	0 d	0 c
<i>A. conoides</i> PPM-1	26,0 bc	60,7 abc	76,2 ab
<i>A. conoides</i> PPM-2	39,4 ab	63,0 abc	77,5 a
<i>Monacrosporium elegans</i>	61,6 ab	84,9 a	95,4 a
<i>M. eudermatum</i>	59,9 ab	80,3 ab	92,0 a
<i>Dactylella leptospora</i>	5,7 cd	60,4 abc	78,0 a
CAN	28,9 abc	38,7 c	50,1 b
GO-49	0 d	0 d	0 c
Teste F	15,42**	27,78**	28,31**
CV (%)	21,5	14,7	8,6

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade; PPM - sigla para diferenciar os isolados; ** significativo a 1% de probabilidade. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\text{arc-sen}\sqrt{\%/100}$.

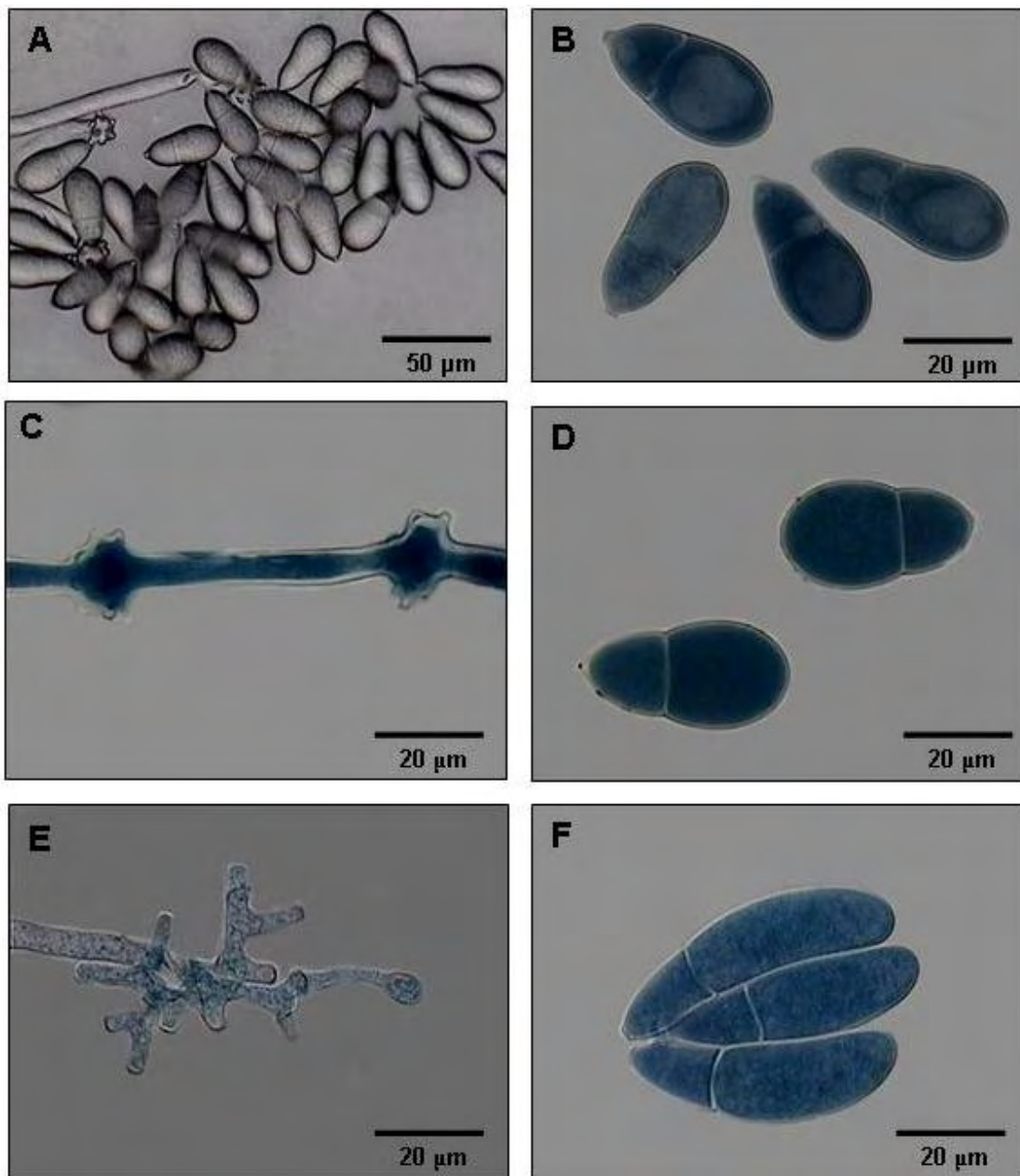


Figura 1: Fotomicrografias dos conídios e conidióforos de fungos nematófagos isolados em amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Conídios e conidióforos de *Arthrotrrys oligospora*; B) Conídios de *A. oligospora*; C) Conidióforo de *A. robusta*; D) Conídios de *A. robusta*; E) Conidióforo de *A. musiformis*; F) Conídios de *A. musiformis*.

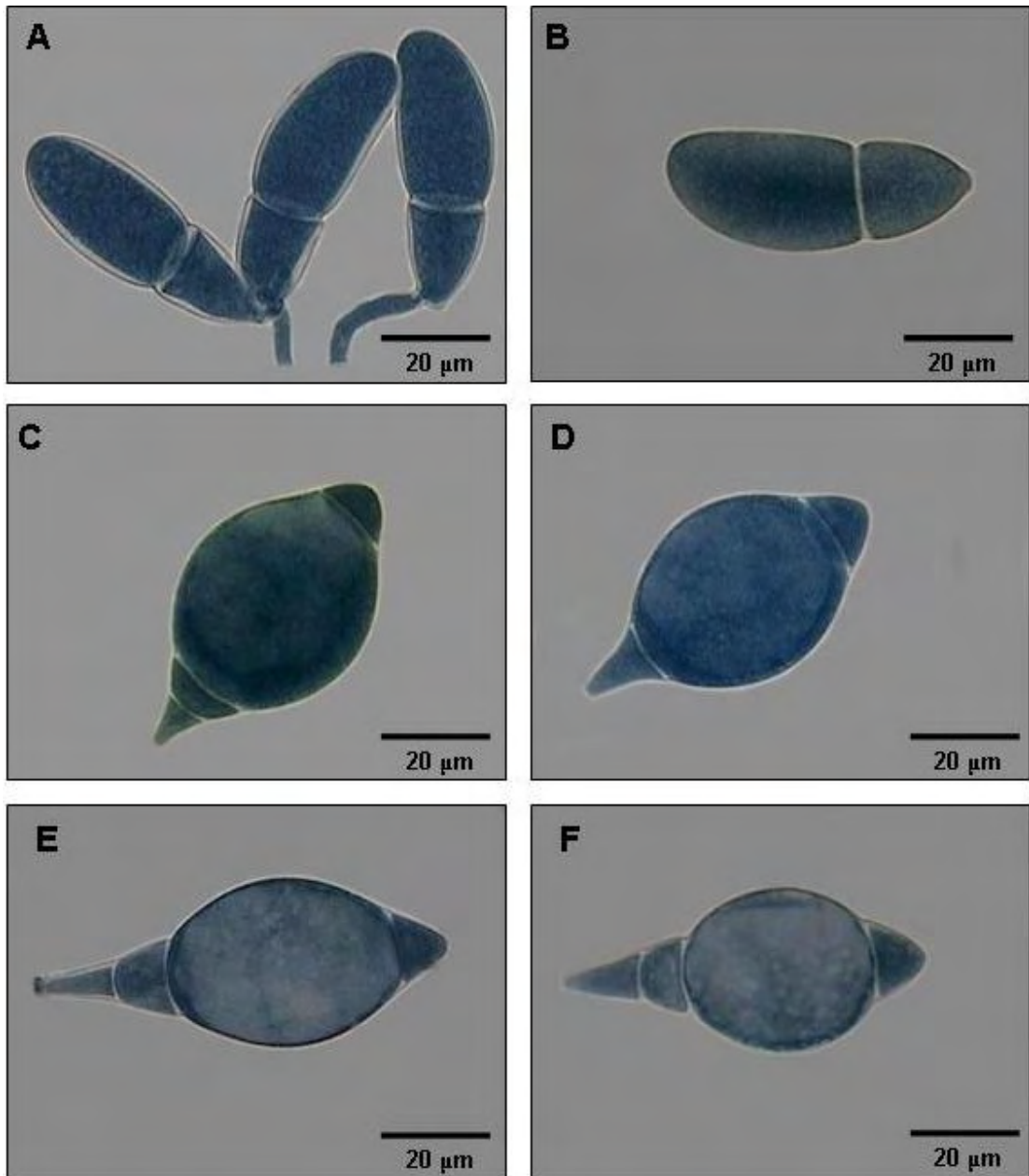


Figura 2: Fotomicrografias dos conídios e conidióforos de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Conidióforos e conídios de *Arthrobotrys conoides*; B) Conídio de *A. conoides*; C-D) Conídios de *Monacrosporium eudermatum*; E-F) Conídios de *Monacrosporium elegans*.

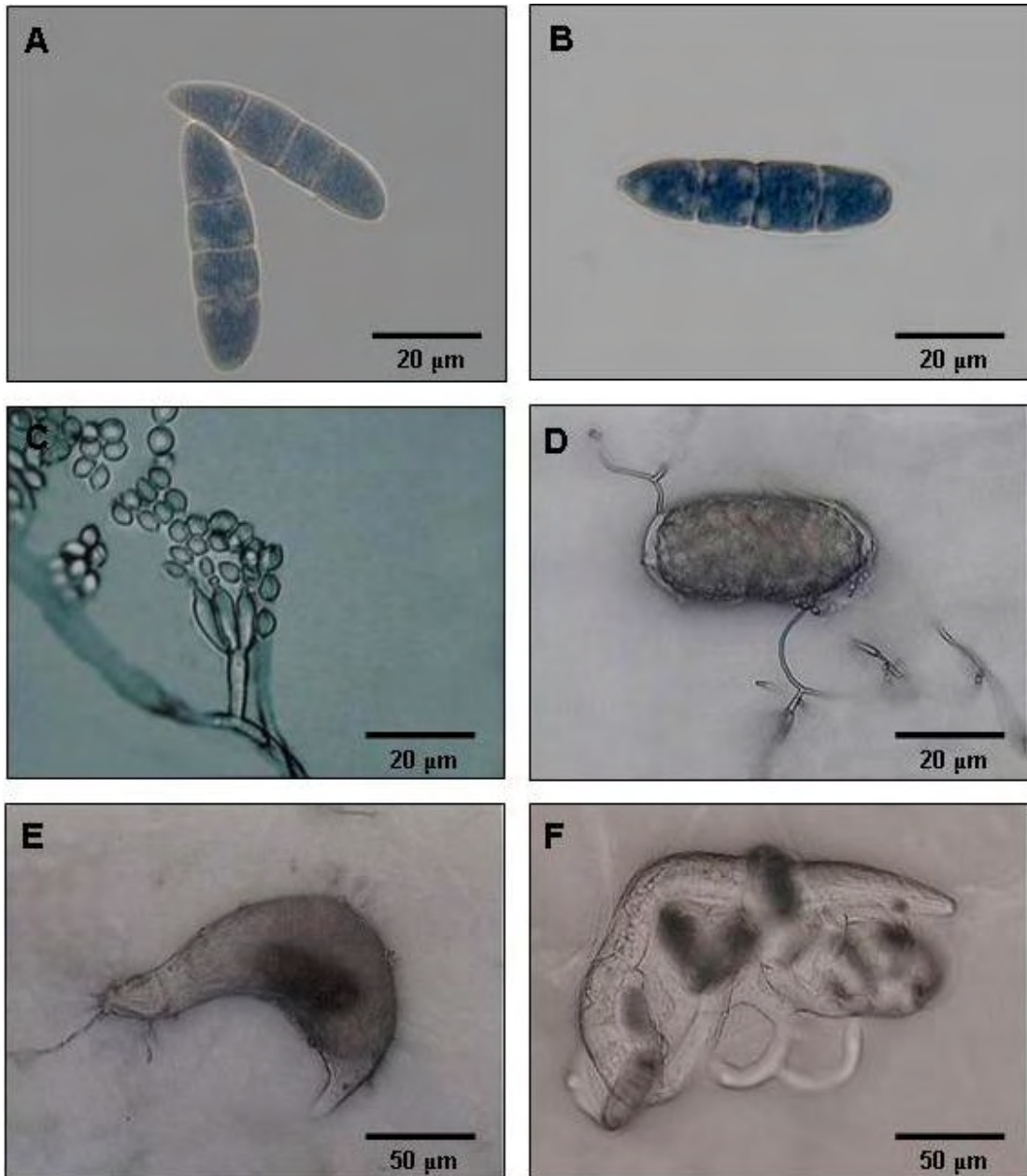


Figura 3: Fotomicrografias dos conídios, conidióforos e órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A-B) Conídios de *Dactylella leptospora*; C) Fiálide e conídios de *Paecilomyces lilacinus*; D) Ovo de *Tylenchulus semipenetrans* parasitado por *P. lilacinus*; E) Fêmea de *T. semipenetrans* parasitada por *P. lilacinus*; F) *T. semipenetrans* capturado em rede adesiva de *A. oligospora*.

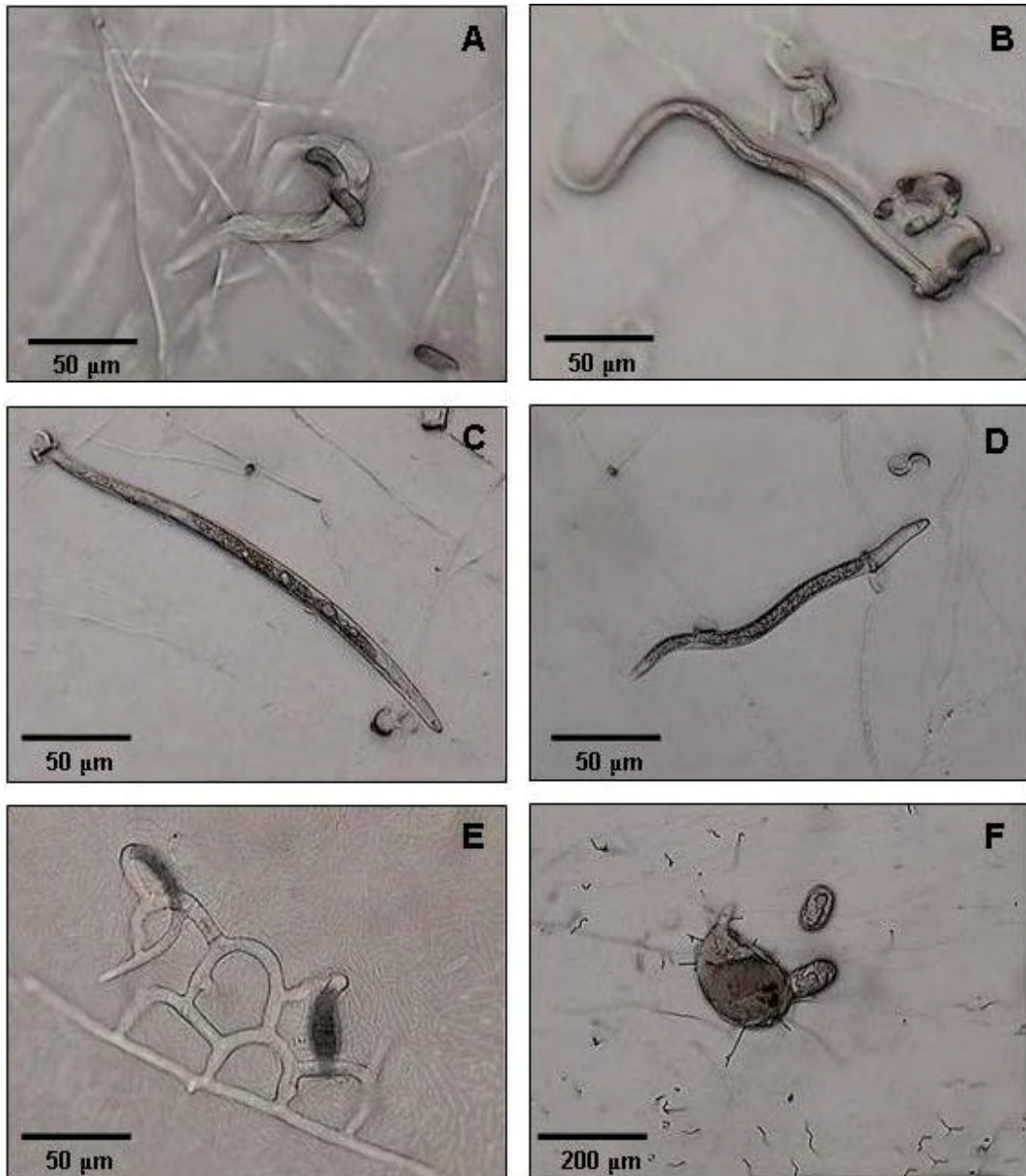


Figura 4: Fotomicrografias dos órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Espécime de *Tylenchulus semipenetrans* capturado por rede adesiva tridimensional de *Arthrobotrys robusta*; B) *T. semipenetrans* capturado por *A. musiformis*; C) *Pratylenchus jaehni* capturado por *A. robusta*; D) *P. jaehni* capturado por *A. musiformis*; E) Rede bidimensional de *M. eudermatum*; F) Fêmea de *T. semipenetrans* com ovos parasitados por *P. lilacinus*.

Com efeito, exceto *A. robusta* PPM-6, todos os outros isolados predaram mais que 75% dos espécimes adicionados às culturas dos fungos. Entre os isolados de *Arthrobotrys* spp. obtidos, PPM-1 e PPM-2 de *A. oligospora* foram os mais promissores com predação acima de 60%, no período de 24 h, 80% em 48 h e ao redor de 90%, em 72 horas de avaliação. CORBANI et al. (2001ab) e CORBANI (2002) também observaram alta capacidade predatória de *A. oligospora* a *T. semipenetrans*. Contudo, os isolados PPM-3 e PPM-4 de *A. oligospora*, obtidos no presente estudo, apresentaram a menor capacidade predatória do nematóide, em relação aos demais. O primeiro predou apenas 2,45 dos espécimes de *T. semipenetrans* adicionados às placas, enquanto o segundo não foi patogênico ao nematóide (Tabela 2). ARAUJO et al. (1993) também observaram comportamento díspar entre isolados da mesma espécie de *Arthrobotrys*.

Os isolados PPM-1 e PPM-2 de *A. conoides* também diferiram estatisticamente entre si, na avaliação de 24 h, mas não diferiram nas outras duas avaliações (Tabela 2).

O isolado de *M. eudermatum* e o de *M. elegans* obtidos não diferiram estatisticamente entre si nem da maioria dos demais isolados. Contudo, predaram mais que 90% dos espécimes de *T. semipenetrans* em 72 h (Tabela 2). Por conseguinte, esses fungos também podem ser considerados agentes potenciais do controle biológico do nematóide.

A capacidade predatória do isolado de *D. leptospora* a *T. semipenetrans* foi inferior à da maioria dos demais isolados obtidos, no período de 24 h. Entretanto, nos períodos de 48 e 72 h, a capacidade predatória desse isolado foi incluída entre as melhores (Tabela 2).

Dois isolados não-identificados (CAN e GO49) não demonstraram potencial como agentes do controle biológico de *T. semipenetrans* visto que, no período de 72 h, após a adição da suspensão do nematóide às culturas desses fungos, a porcentagem de predação foi de 50,15% e zero, respectivamente (Tabela 2).

Para *P. jaehni*, 82,1% dos fungos nematófagos isolados foram patogênicos (Tabela 1), sendo que, em algumas espécies de *Arthrobotrys*, houve isolado que não predou o nematóide (Tabela 3). Esses isolados foram encontrados em amostras retiradas em áreas em que *P. jaehni* não estava presente (Tabela 4). Com efeito,

AHREN & TUNLID (2003) mencionaram que a coevolução das espécies de fungos nematófagos com os nematóides é um pré-requisito para o desenvolvimento da capacidade predatória dos fungos. NORDBRING-HERTZ (1972) demonstrou que existe especificidade do fungo com relação ao nematóide, e que esta é de natureza bioquímica. Se houver reconhecimento entre as lecitinas dos órgãos de captura do fungo e açúcares presentes na cutícula do nematóide, pode ser estabelecida a relação de parasitismo. Esse fato justifica a patogenicidade ou não de um isolado, a um certo nematóide. ARAUJO et al. (1993) também observaram diferenças na capacidade predatória entre isolados de uma mesma espécie de *Arthrobotrys* a juvenis de *Meloidogyne* sp.

As diferenças na capacidade predatória dos isolados a *T. semipenetrans* e a *P. jaehni*, observadas nas Tabelas 2 e 3, provavelmente decorrem do fato de que a maioria das amostras de solo analisadas (94,8%) tinha a presença de *T. semipenetrans*, enquanto *P. jaehni* foi constatado em apenas 21,1% delas (Tabelas 1 e 3). Contudo, SANTOS (1991) explica que o tamanho do corpo do nematóide e a forma de movimentação dos nematóides influenciam na porcentagem da captura ou da não-captura do nematóide.

Os dados da Tabela 4 mostram que houve uma predominância de *T. semipenetrans* nas amostras de solo dos pomares de citros, e 92,8% dos pomares apresentaram fungos nematófagos e que foram patogênicos a essa praga (Tabela 1), conforme WALTER & KAPLAN (1990) já haviam observado. Também constatou que *P. jaehni* estava presente em apenas 21,1% das amostras e que 82,1% dos fungos isolados foram patogênicos a esse nematóide (Tabela 4). Conforme os dados da Tabela 3, os isolados mais eficientes no controle de *P. jaehni* foram *M. eudermatum*, *M. elegans*, *D. leptospora*, *A. oligospora* PPM-2, *A. oligospora* PPM-1, *A. robusta* PPM-3 e *A. musiformis* PPM-4, com porcentagens de predação, em 72 h, de 95,3; 93,1; 89,6; 85,5; 80,1; 79,1 e 78,1; respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si.

Tabela 3: Porcentagem da capacidade predatória de 26 isolados de fungos nematófagos a *Pratylenchus jaehni* *in vitro* após diferentes tempos de avaliação.

Isolados	porcentagem de espécimes predados		
	24 h	48 h	72 h
<i>Arthrobotrys musiformis</i> PPM-1	32,1 abcde	41,6 bcdefg	58,2 abcdef
<i>A. musiformis</i> PPM-2	20,4 bcdefg	29,6 bcdefg	33,5 defg
<i>A. musiformis</i> PPM-3	47,6 abc	49,9 abcdefg	70,5 abcd
<i>A. musiformis</i> PPM-4	30,5 abcde	62,6 abcd	78,1 abcd
<i>A. musiformis</i> PPM-5	5,7 efgh	12,8 efgh	24,0 efgh
<i>A. musiformis</i> PPM-6	54,9 ab	61,1 abcd	69,7 abcd
<i>A. musiformis</i> PPM-7	5,5 fgh	6,1 fgh	6,4 gh
<i>A. robusta</i> PPM-1	54,3 ab	59,3 abcde	61,6 abcde
<i>A. robusta</i> PPM-2	0 h	0 h	0 h
<i>A. robusta</i> PPM-3	40,0 abcd	77,2 ab	79,1 abcd
<i>A. robusta</i> PPM-4	7,2 efgh	10,2 efgh	13,1 gh
<i>A. robusta</i> PPM-5	6,7 efgh	12,0 efgh	17,8 fgh
<i>A. robusta</i> PPM-6	27,8 bcdefg	57,1 abcdef	65,2 abcde
<i>A. robusta</i> PPM-7	23,3 bcdefg	36,6 bcdefg	38,7 bcdefg
<i>A. oligospora</i> PPM-1	43,9 abc	78,1 ab	80,1 abc
<i>A. oligospora</i> PPM-2	64,4 a	80,3 a	85,5 ab
<i>A. oligospora</i> PPM-3	18,9 bcdefg	25,1 cdefgh	35,3 cdefg
<i>A. oligospora</i> PPM-4	0 h	0 h	0 h
<i>A. conoides</i> PPM-1	3,5 gh	4,3 gh	8,4 gh
<i>A. conoides</i> PPM-2	0 h	0 h	0 h
<i>A. conoides</i> PPM-3	13,1 defgh	13,1 defgh	13,1 gh
<i>Monacrosporium elegans</i>	57,5 ab	74,7 abc	93,1 a
<i>M. eudermatum</i>	40,2 abcd	75,9 ab	95,3 a
<i>Dactylella leptospora</i>	16,2 cdefg	67,1 abc	89,7 a
GO 49	0 h	0 h	0 h
CAN	0 h	0 h	0 h
Teste F	15,75**	22,34**	24,45**
dms (Tukey 5%)	23,95	26,64	29,47
CV (%)	36,35	30,38	29,11

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. PPM - sigla para diferenciar os isolados; ** significativo a 1% de probabilidade. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\text{arc-sen}\sqrt{\%/100}$.

Tabela 4: Distribuição dos fungos nematófagos em amostras de solo de pomares de citros infestados por *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni*, no Estado de São Paulo.

Município	Cultura	Idade (Anos)	Espécimes <i>T. semipenetrans</i>			Espécimes <i>P. jaehni</i>			Espécies Isoladas
			Solo	Raiz	Ovos	Solo	Raiz	Ovos	
Bebedouro - SP									
Amostra 1	Laranja "Pêra"	13	58	698	857	-	-	-	<i>Arthrobotrys robusta</i>
Amostra 2	Laranja "Pêra"	13	159	987	1287	-	-	-	<i>A. musiformis</i>
Amostra 3	Laranja "Pêra"	13	207	789	886	-	-	-	<i>A. robusta</i>
Amostra 4	Laranja "Pêra"	18	1142	9872	6780	-	-	-	<i>A. oligospora</i>
Amostra 5	Laranja "Pêra"	18	2578	7982	3258	-	-	-	-
Cândido Rodrigues - SP									
Amostra 1	Lima Ácida Tahiti	25	164	503	2050	-	-	-	<i>A. conoides</i>
Amostra 2	Lima Ácida Tahiti	25	144	3118	3685	-	-	-	<i>A. robusta</i>
Amostra 3	Lima Ácida Tahiti	25	790	858	3206	-	-	-	<i>A. musiformis</i>
Amostra 4	Lima Ácida Tahiti	25	198	304	1999	-	-	-	<i>A. musiformis</i>
Amostra 5	Lima Ácida Tahiti	25	234	400	2570	-	-	-	<i>A. oligospora</i>
Amostra 6	Lima Ácida Tahiti	25	486	2007	5968	-	-	-	<i>A. oligospora</i>
Amostra 7	Lima Ácida Tahiti	17	14784	15280	23280	-	-	-	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
Goiânia - GO									
Amostra 1	Laranja "Valência"	10	3320	16080	7488	-	-	-	<i>Monacrosporium elegans</i>
Amostra 2	Laranja "Valência"	10	2980	15662	5889	-	-	-	-
Itápolis - SP									
Amostra 1	Laranja "Natal"	20	-	-	-	0	32	8	<i>A. musiformis</i>
Amostra 2	Laranja "Natal"	20	478	981	1024	16	280	50	<i>A. robusta</i>
Amostra 3	Laranja "Natal"	20	298	395	582	80	658	120	<i>A. oligospora</i>
Amostra 4	Laranja "Natal"	20	720	1200	1705	25	380	85	<i>A. musiformis</i>
Amostra 5	Laranja "Natal"	20	8	4	40	-	-	-	-
Amostra 6	Laranja "Natal"	20	78	198	780	40	2667	780	-
Amostra 7	Laranja "Natal"	20	48	337	541	30	1870	541	<i>M. eudermatum</i>
Amostra 8	Laranja "Natal"	20	57	225	147	12	558	147	-
Monte Alto - SP									
Amostra 1	Laranja "Pêra"	12	1520	2408	9720	-	-	-	<i>A. musiformis</i>
Amostra 2	Laranja "Pêra"	12	316	624	960	-	-	-	<i>A. robusta</i>
Amostra 3	Laranja "Pêra"	12	736	1720	3760	-	-	-	-
Amostra 4	Laranja "Pêra"	12	48	120	160	-	-	-	-

Continuação

Amostra 5	Laranja "Pêra"	12	252	216	328	-	-	-	A. robusta
Amostra 6	Laranja "Pêra"	12	188	156	152	-	-	-	-
Amostra 7	Laranja "Pêra"	18	20	160	680	4	0	-	-
Taquaral - SP									
Amostra 1	Laranja "Pêra"	30	358	1298	1850	-	-	-	-
Amostra 2	Laranja "Pêra"	30	198	1472	2200	-	-	-	-
Amostra 3	Laranja "Pêra"	30	145	1582	1997	-	-	-	A. robusta
Taquaritinga - SP									
Amostra 1	Laranja "Pêra"	11	452	1181	1588	-	-	-	A. musiformis
Amostra 2	Laranja "Pêra"	11	652	1458	2699	-	-	-	A. conoides
Amostra 3	Laranja "Pêra"	11	487	1683	2362	-	-	-	A. robusta
Amostra 4	Laranja "Pêra"	11	187	583	1024	-	-	-	Dactylella leptospora
Amostra 5	Laranja "Pêra"	8	56	399	802	-	-	-	A. oligospora
Amostra 6	Laranja "Pêra"	8	98	1255	1532	-	-	-	-
Amostra 7	Laranja "Pêra"	8	147	987	1036	-	-	-	A. robusta

Enquanto os isolados *A. oligospora* PPM-4, *A. conoides* PPM-2, *A. robusta* PPM-2, CAN, 2 GO49, *A. conoides* PPM-1, *A. musiformis* PPM-7 tiveram patogenicidade muito baixa, menos de 10% não predaram o nematóide.

Alguns desses isolados exibiram expressiva capacidade predatória de ambos os nematóides, podendo ser usados no manejo dessas pragas como alternativa de controle. GASPARD & MANKAU (1986) e WALTER & KAPLAN (1990) também mencionaram que os isolados de fungos nematófagos associados a *T. semipenetrans* podem ser utilizados no manejo dessa praga. MARTINELLI & SANTOS (2007ac) demonstraram, *in vitro*, o potencial do controle biológico de alguns fungos no controle de *P. jaehni* e *T. semipenetrans*. Em outros estudos desenvolvidos no Laboratório de nematologia da FCAV/UNESP de Jaboticabal, também já foi demonstrado o potencial do controle biológico de diferentes nematóides por outros fungos, em diversas outras culturas (CORBANI, 2002; BERNARDO, 2002; SOARES, 2006).

CONCLUSÕES

Dos 26 isolados detectados nas amostras, 92,8% eram patogênicos a *T. semipenetrans*, e 82,1% a *P. jaehni*. Para *T. semipenetrans*, obtivemos um número maior de isolados promissores em comparação a *P. jaehni*. Contudo, os isolados *A. oligospora* PPM-1 e PPM-2, *A. robusta* PPM-1, PPM-2 e PPM-8, *A. musiformis* PPM-1, PPM-2 e PPM-5, *M. elegans*, *M. eudermatum* e *D. leptospora* foram os mais promissores, com potencial para uso a campo no controle de *T. semipenetrans*. Para *P. jaehni*, os isolados mais promissores foram *M. eudermatum*, *M. elegans*, *D. leptospora*, *A. oligospora* PPM-1 e PPM-2, *A. robusta* PPM-3 e *A. musiformis* PPM-4.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHREN, D.; TUNLID, A. Evolution of parasitism in nematode-trapping fungi. **Journal of Nematology**, Lawrence v. 35, n. 2, p. 194-197, 2003.

ARAUJO, J. V.; SANTOS, M. A.; FERRAZ, S.; MAIA, A. S. Antagonistic effect of predacious *Arthrobotrys* fungi on effective *Haemonchus placei* larvae. **Journal of Helminthology**, Egham, v. 67, n. 1, p. 136-138, 1993.

BARBOSA, J. C.; MALHEIROS, E. B.; BANZATTO, D. A. **ESTAT**. Um sistema de análises estatísticas de ensaios agronômicos. Jaboticabal, 1992.

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**, Ottawa, 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.

BERNARDO, E. R. A. **Eficácia do controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira, 1940) em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) com fungos nematófagos**. 2002. 74 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) - Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2002.

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**. 2002. 44 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado e Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2002.

CORBANI, R. Z.; SANTOS, J. M.; MAIA, A. S. Estudo de agentes potenciais do controle biológico do nematóide dos citros (*Tylenchulus semipenetrans*). In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, XXIV, 2001, Piracicaba **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 27. supl. p. 134-135, 2001a.

CORBANI, R. Z. Patogenicidade in vitro de *Arthrobotrys oligospora* a *Tylenchulus semipenetrans*. In: Congresso Brasileiro de Nematologia, XXIII, 2001, Marília **Resumos...** Marília: SBN, p. 63, 2001b.

DUNCAN, L. W.; COHN, E. Nematode diseases of citrus. In: Bridge, J.; Luc, M. and Sikora, R. editors. **Plant parasitic nematodes in subtropical agriculture**. Wallingford, UK: CAB International. p. 321-346, 1990.

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. 431-3, 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.

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.

MAIA, A. S. **Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines***. 2000. 117f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista de Jaboticabal, Jaboticabal, 2000.

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

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, 2007. p.54.

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, 2007.

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

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

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.

RIBEIRO, R. C. F.; FERRAZ, S.; MIZOBUTSI, E. H.; MENDES, M. Levantamento de espécies de *Monacrosporium* em diversas regiões brasileiras. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 41-47, 1999.

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

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, 2006. p. 607-628.

SANTOS, M. A. **Detecção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos em solos do Brasil**. 1991. 97f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 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. **Estudos do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos**. 217 f. Tese de Doutorado (Doutorado e Agronomia, área de

concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2006.

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.

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

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

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.

VAN GUMDY, 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. 467-478.

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 3 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE FUNGOS NEMATÓFAGOS ASSOCIADOS A *Tylenchulus semipenetrans* E *Pratylenchus jaehni*

RESUMO

Fungos nematófagos têm sido estudados como uma alternativa promissora para o manejo de nematóides dos citros. Isolados detectados em pomares de citros, principalmente do Estado de São Paulo, foram estudados no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da UNESP/FCAV – Câmpus de Jaboticabal-SP. Este estudo teve por objetivo documentar ao microscópio eletrônico de varredura as estruturas morfológicas marcantes para a identificação das principais espécies de fungos nematófagos envolvidas no estudo, associadas a *T. semipenetrans* e *P. jaehni*, a saber: *Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides*, *A. robusta*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora*, *Monacrosporium eudermatum* e *M. elegans*.

Palavras-chave: microscopia eletrônica de varredura, fungos predadores, *Arthrobotrys* spp., *Monacrosporium* spp., *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni*.

INTRODUÇÃO

A atividade agrícola vem causando modificações no ambiente, quebrando o equilíbrio natural e favorecendo determinados organismos, indicando que algum fator do equilíbrio biológico não está em harmonia, resultando na ocorrência de doenças e pragas em proporções tanto maiores quanto maior for o desequilíbrio (BAKER & COOK, 1974). O controle biológico parece ser a restauração do equilíbrio, interferindo nas populações de pragas ou doenças (MAIA et al., 2001).

Os fungos antagonistas de nematóides podem ser divididos em predadores, endoparasitos, oportunistas (parasitos de ovos, cistos e de fêmeas sedentárias), e

aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides (MORGAN-JONES & RODRIGUEZ-KÁBANA, 1987). Os fungos predadores formam armadilhas de diferentes tipos (BALAN & GERBER, 1972). São conhecidos sete tipos de armadilhas: hifas adesivas não-modificadas; ramificações hifais anastomosadas, formando redes adesivas tridimensionais e bidimensionais; ramificações adesivas formadas por uma ou mais células; nódulos adesivos; anéis constritores; e anéis não-constritores (GRAY, 1988).

Os principais gêneros de fungos predadores conhecidos são: *Arthrobotrys* Corda, *Dactylaria* Saccardo, *Dactylella* Grove e *Monacrosporium* Oudemans, os quais parasitam nematóides vermiformes (MANKAU, 1980), podendo algumas espécies parasitar ovos (MAIA, 2000).

A ocorrência de fungos predadores e oportunistas tem sido constatada por vários pesquisadores a partir de amostras de solo e raízes, e a partir de cistos e/ou massas de ovos de nematóides fitoparasitos (GASPARD & MANKAU, 1986; WALTER & KAPLAN, 1990; NAVES & CAMPOS, 1991; SANTOS, 1991; FERRAZ et al., 1992; MAIA et al., 1993; LIMA, 1996; SANTOS, 1996; MIZOBUTSI et al., 1999; RIBEIRO et al., 1999; MAIA, 2000; GENÉ et al., 2005).

GASPARD & MANKAU (1986), em estudos de fungos nematófagos associados a *T. semipenetrans* em pomares de citros na Califórnia, isolaram fungos em 43 das 58 amostras analisadas, e as principais espécies encontradas foram de *Arthrobotrys*.

DAVID & DAVID (1990) observaram, em um pomar de citros, que a população de *T. semipenetrans* tinha vários antagonistas. Onze espécies de microrganismos, além de *Pasteuria* spp., foram observadas atacando juvenis ou fêmeas imaturas de *T. semipenetrans*. WALTER & KAPLAN (1990), estudando os antagonistas dos nematóides dos citros na Flórida, isolaram 24 microrganismos antagonistas aos nematóides, sendo que 12 espécies atacavam *T. semipenetrans*. Ao todo, isolaram 17 espécies de fungos nematófagos de 27 pomares de citros amostrados.

GENÉ et al. (2005) amostrando pomares de citros da região da Catalunha, Espanha, 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 do nematóide. Em estudo de patogenicidade *in vitro* de *T. semipenetrans* por *A. musiformis*, *A. robusta*, *A. conoides* e *A. oligospora* demonstraram que as quatro espécies tinham potencial de controle do nematóide dos citros.

MARTINELLI & SANTOS (2007bc), realizando testes *in vitro* com diferentes espécies de fungos nematófagos, concluíram que, pelo menos, três espécies de *Arthrobotrys*, além de *Monacrosporium* sp. e *Dactylella* sp. tinham expressivo potencial como agentes do controle biológico de *P. jaehni*.

Exames de nematóides capturados por fungos nematófagos, ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), são muito úteis para elucidar o modo de ação desses agentes e auxiliar na compreensão de como esses organismos interagem entre si (BARRON, 1977; DOWSETT e REID, 1977; JANSSON e NORDBRING-HERTZ, 1988; LOPES-LORCA e DUNCAN, 1991; MAIA e SANTOS, 1995; MAIA e SANTOS, 1999; MAIA, 2000).

Este estudo teve por objetivo documentar ao microscópio eletrônico de varredura as estruturas morfológicas marcantes para identificação das principais espécies de fungos nematófagos envolvidas no estudo, associadas a *T. semipenetrans* e *P. jaehni*.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade e no Laboratório de Microscopia Eletrônica da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal-SP. Os isolados utilizados no estudo foram obtidos como descrito no Capítulo 2, sendo incluído um isolado de cada um dos fungos: *Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis*, *A. robusta*, *A. conoides*, *Monacrosporium eudermatum*, *M. elegans* e *Dactylella leptospora*. O preparo das amostras para a documentação ao MEV foi realizado a partir de culturas puras dos fungos nematófagos, as quais foram repicadas para placas de Petri contendo ágar-água a 2 % e incubadas em B.O.D., à temperatura

de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, no escuro, por 5 dias. A seguir, 1 mL de suspensões contendo 100 espécimes de *Tylenchulus semipenetrans* ou de *Pratylenchus jaehni* foi vertido na placa, e essas culturas foram, novamente incubadas como anteriormente mencionado. Quando se observaram 50 ou mais nematóides predados e estruturas reprodutivas dos fungos, procedeu-se à fixação em glutaraldeído a 3%, em tampão de fosfato de potássio a 0,05 M e pH 7,2 a 7,4. Uma lâmina da solução de glutaraldeído, apenas para cobrir a superfície do meio, foi aplicada às placas, e essas foram mantidas em geladeira ($5 - 8^\circ\text{C}$) por 72 h. Em seguida, a solução de glutaraldeído foi removida das placas, e as culturas foram cuidadosamente lavadas com a solução tampão pura. Pequenas porções do meio contendo nematóides capturados, estruturas de captura do fungo ou conídios foram removidos do meio e transferidos para vidros de boca larga e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2%, no mesmo tampão e mesma temperatura, por 12 h. Então, foram novamente lavadas, desidratadas em uma série gradual de acetona, secas em secador de ponto crítico, montadas em porta-espécimes, recobertas com uma camada de 36 nm de ouro paládio e elétrôn-micrografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 5410, operando em 15 kV (MAIA & SANTOS, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1A, observam-se detalhes do crescimento de *A. musiformis* no meio de agar-água. O conidióforo de *A. musiformis* é em forma de candelabro com esterigmas apicais ramificados (Figura 1B), como observado por LIMA (1996). Nas Figuras 1C e D observam-se um espécime de *P. jaehni* capturado por um anel constritor de *D. leptospora* e o detalhe do anel constritor com três células infladas (seta). Na opinião de NODBRING-HERTZ (1973), a presença do nematóide é indispensável para que ocorra a atividade das estruturas de captura. A Figura 1E ilustra a forma do conídio de *M. elegans* com quatro células conidiógenas de formato oblongo fusiforme, com a segunda célula inflada (seta), conforme menção de DOWSETT et al. (1984). A captura de um espécime de *P. jaehni* pelo fungo e a estrutura de captura na

forma de rede adesiva tridimensional podem ser observadas na Figura 1F(seta), conforme RUBNER (1996).

A Figura 2 contém ilustrações de estruturas de espécies de *Arthrobotrys* e nematóides capturados por esses fungos. Na Figura 2A, observa-se o início da formação de uma rede adesiva de *A. robusta*, como havia sido observado por LIMA (1996) em sua caracterização de isolados dessa espécie. A captura de um espécime de *P. jaehni* pela rede adesiva de *A. robusta* é observada na Figura 2B. Na Figura 2C, ilustrou-se o conídio de *A. musiformis* com formato elipsoidal-alongado a musiforme, bicelular com septo inframediano (seta), conforme a caracterização da espécie elaborada por LIMA (1996). Um espécime de *P. jaehni* é capturado por redes bidimensionais de *A. musiformis* (Figura 2D), enquanto o conídio de *A. oligospora* no formato obovóide a piriforme, bicelular, com septo inframediano (seta), com ligeira constrição no septo, coincidindo com a descrição da espécie elaborada por BARRON (1977) e LIMA (1996), é observado na Figura 2E. Na Figura 2F, observa-se um espécime de *P. jaehni* capturado por uma rede adesiva bidimensional de *A. oligospora*.

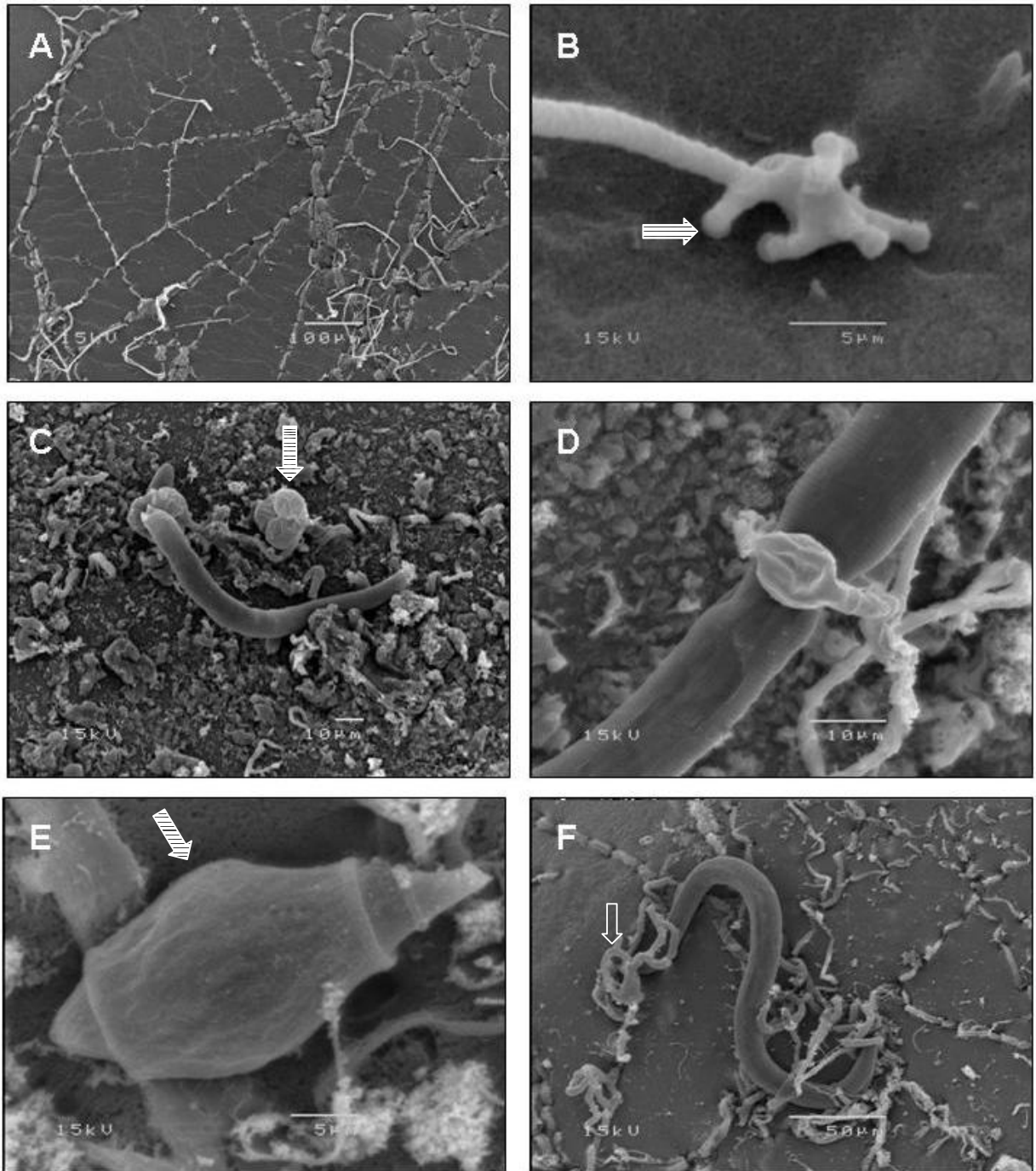


Figura 1: Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Aspecto geral do meio de cultura B) Conidióforo de *A. musiformis*; C) *Pratylenchus jaehni* capturado pelo anel constritor de *Dactylella leptospora* e detalhe do anel constritor com três células infladas (seta); D) Detalhe do anel constritor de *D. leptospora*; E) Conídio de *Monacrosporium elegans*; F) *P. jaehni* capturado por *M. elegans*.

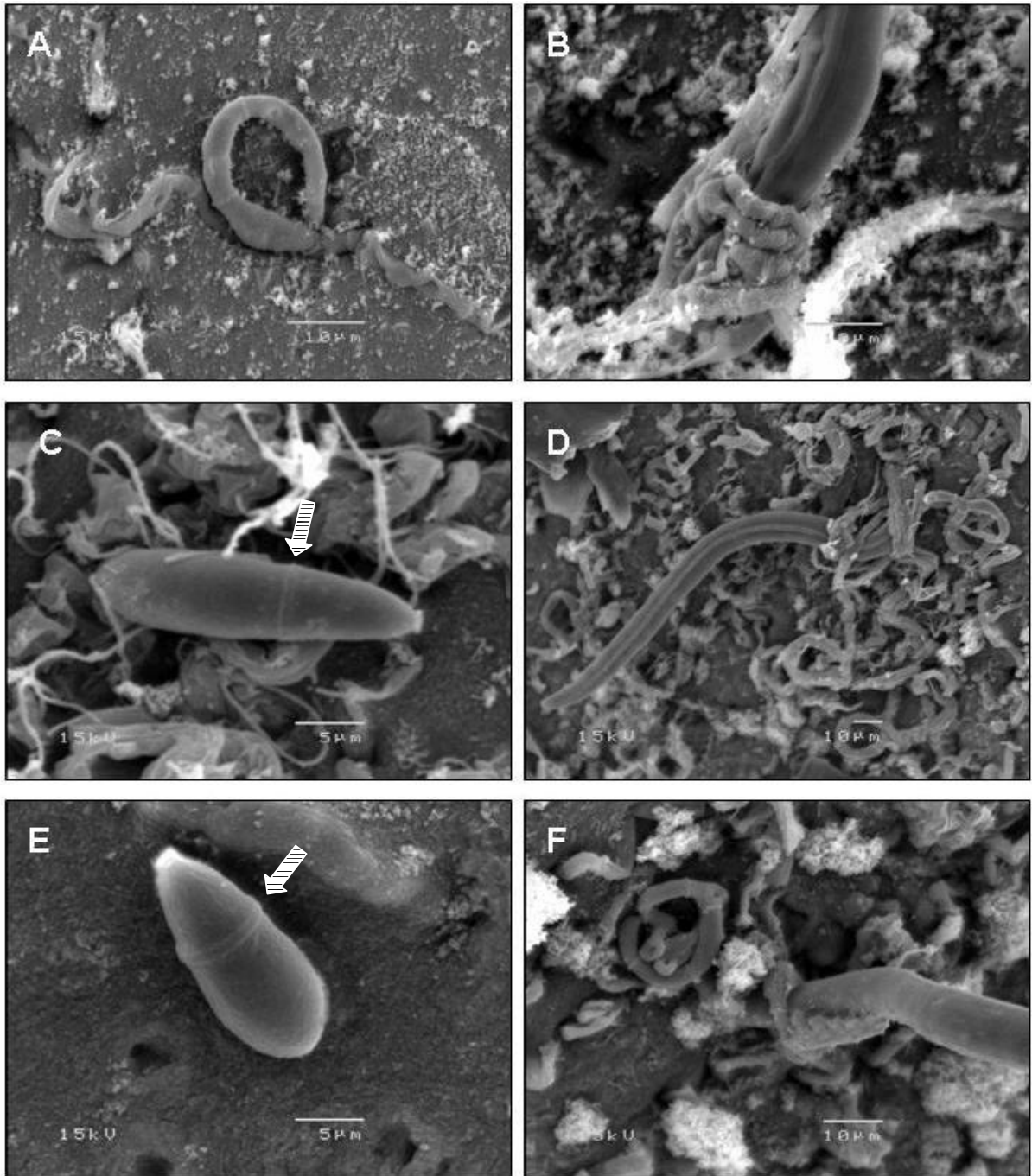


Figura 2: Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) Início da anastomose da rede adesiva de *Arthrobotrys robusta*; B) Detalhe do nematóide *P. jaehni* capturado por *A. robusta*; C) Conídio *A. musiformis*; D) *P. jaehni* capturado por *A. musiformis*; E) Conídio de *A. oligospora*; F) *P. jaehni* capturado por *A. oligospora*.

As Figuras 3A e 3B são relativas a *M. elegans*. Observa-se, na Figura 3A, um espécime de *T. semipenetrans* preso à rede tridimensional. Na Figura 3B, é observada a anastomose das redes tridimensionais de *M. elegans*. Para *A. oligospora*, observam-se redes adesivas (Figura 3C) e a captura de um espécime de *T. semipenetrans* por essas estruturas (Figura 3D).

As ilustrações das Figuras 3E e 3F referem-se à *Monacrosporium eudermatum*. Na Figura 3E, um espécime de *T. semipenetrans* está preso em rede adesiva bidimensional formada pelo fungo. Detalhes do conídio com 3 septos, constricção característica e as quatro células conidiógenas, como anteriormente observado por MAIA (2001) em observações ao MEV com essa espécie de fungo nematófago, apareceram na Figura 3F.

Na Figura 4A, observam-se espécimes de *T. semipenetrans* capturados por redes adesivas de *A. robusta*. Enquanto, na Figura 4B, estão ilustrados conídios de *A. robusta* com formato obovóide, bicelulares com septo inframediano conforme a descrição elaborada por LIMA (1996). A Figura 4C é pertinente a um conjunto de conídios de *A. musiformis* produzidos em um arranjo radiado e não-adensado, enquanto a Figura 4D ilustra um espécime de *T. semipenetrans* capturado por uma rede adesiva de *A. musiformis*. Nas Figuras 4E e F, são apresentados detalhes de um espécime de *T. semipenetrans* capturado por redes adesivas de *A. conoides*.

Os tipos de armadilhas e estruturas reprodutivas dos fungos nematófagos documentados no presente estudo estão de acordo com as descrições elaboradas por outros pesquisadores (LIMA, 1996; MAIA, 2000; SOARES, 2006).

CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente estudo confirmaram que a microscopia eletrônica de varredura é uma ferramenta eficaz para auxiliar no entendimento do modo de ação dos fungos nematófagos e revelar detalhes de suas estruturas reprodutivas e de captura, confirmando a patogenicidade dos isolados a *T. semipenetrans* e *P. jaehni*.

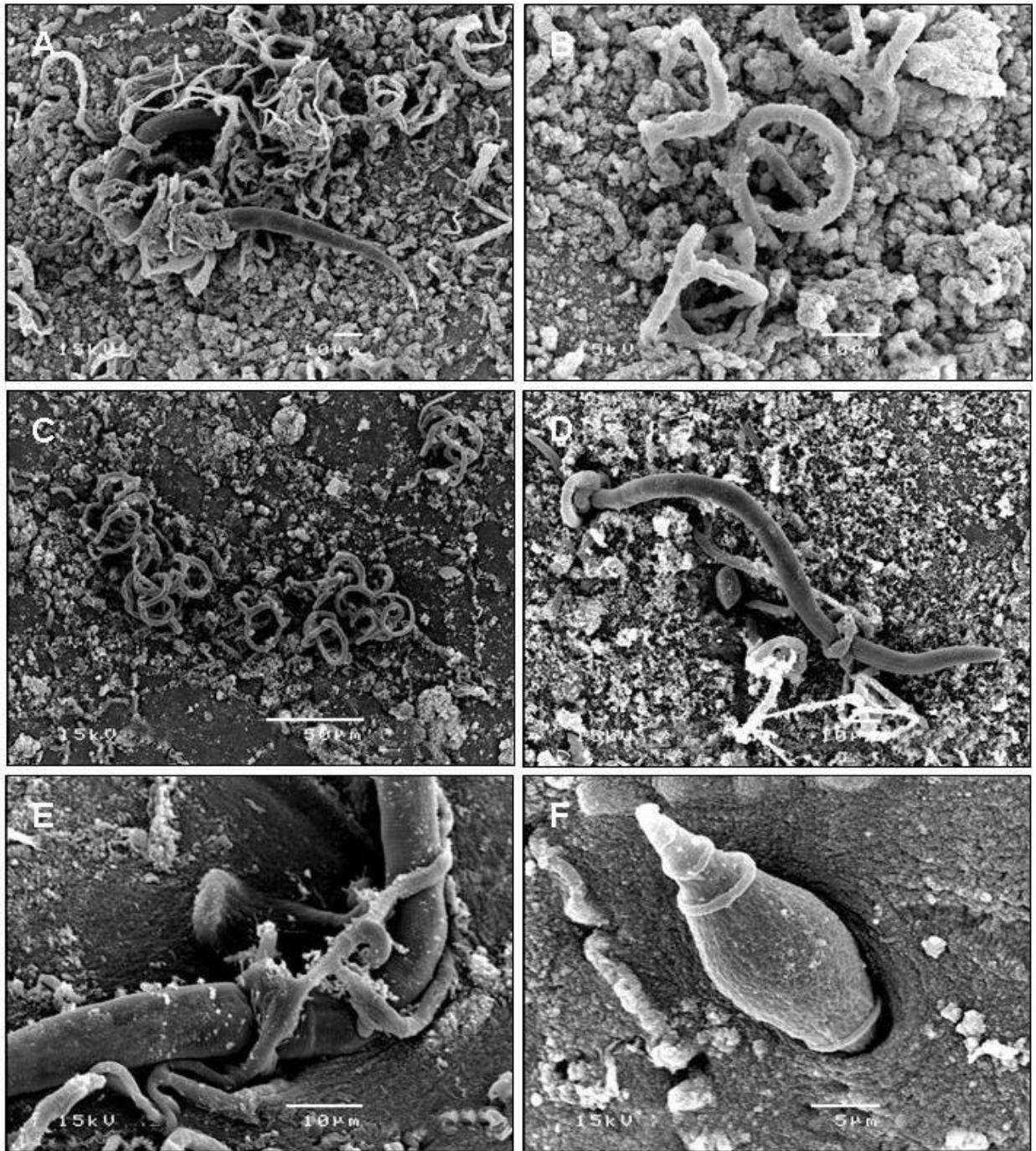


Figura 3: Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) *Tylenchulus semipenetrans* capturado por *Monacrosporium elegans*; B) Rede bidimensional de *M. elegans*; C) Órgãos de captura de *Arthrobotrys oligospora*; D) *T. semipenetrans* capturado por *A. oligospora*; E) *T. semipenetrans* capturado por *M. eudermatum*; F) Conídio de *M. eudermatum*.

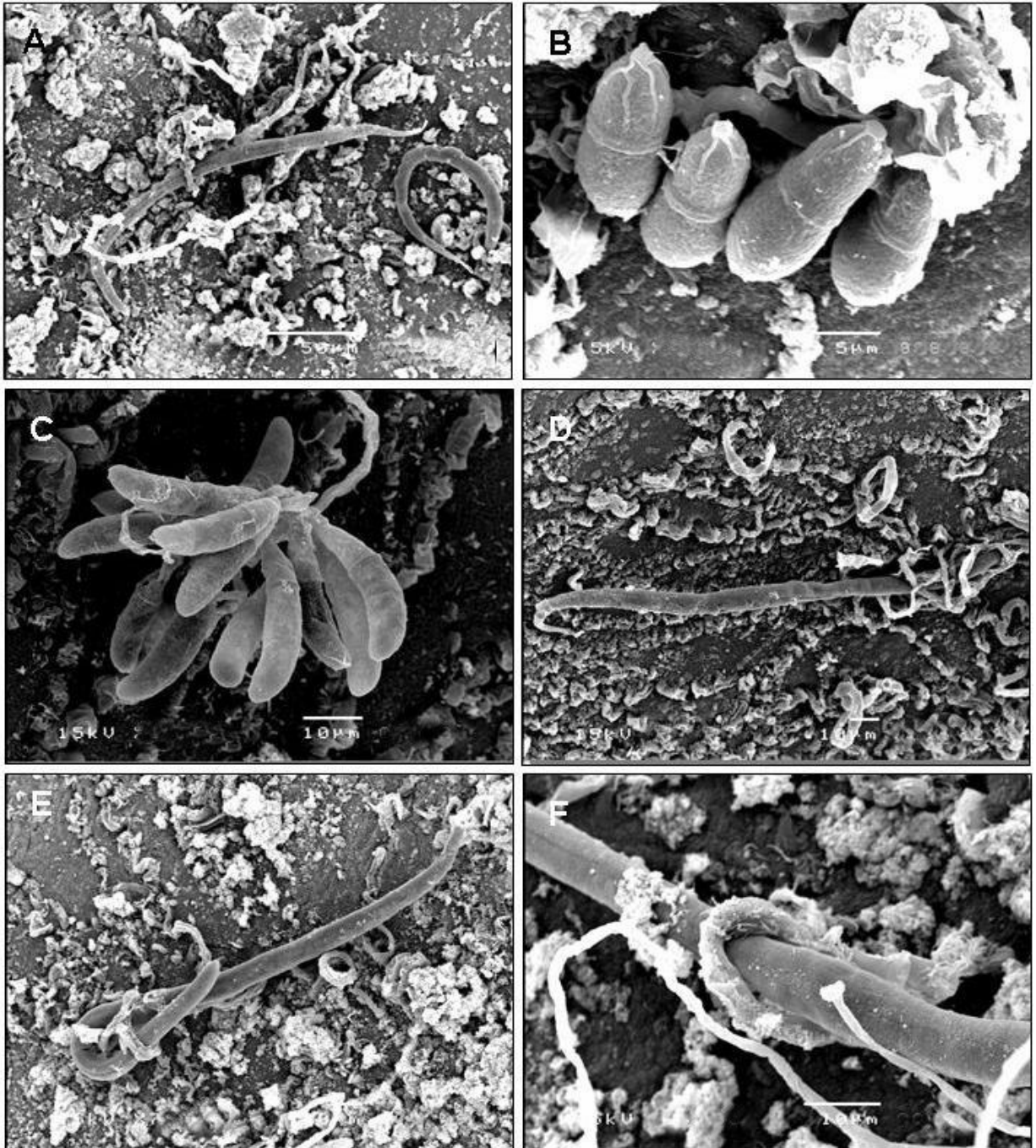


Figura 4: Elétron-micrografia de órgãos de captura de fungos nematófagos isolados de amostras de solo de citros no Estado de São Paulo. A) *Tylenchulus semipenetrans* capturado por *Arthrobotrys robusta*; B) Conídios de *A. robusta*; C) Conídios de *A. musiformis*; D) *T. semipenetrans* capturado por *A. musiformis*; E-F) *T. semipenetrans* capturado por *A. conoides*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. São Francisco: W. H. Freeman 1974. 433p.

BALAN, J.; GERBER, N. Attraction and killing of nematode *Panagrellus redivivus* by the predaceous fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Nematologica**, Leiden, v. 18, n. 1, p. 163-173, 1972.

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

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

DOWSETT, J. A.; REID, J. Observations on the trapping of nematodes by *Dactylaria scaphoides* using optical, transmission and scanning-electron-microscopic techniques. **Mycology**, New York, v. 71, p. 379-391, 1977.

DOWSETT, J. A.; REID, J.; KALKAT, R. S. A New species of *Dactylella*. **Mycologia**. Stanford, v. 76, n. 3, p. 563-566, 1984.

FERRAZ, S., MAIA, A.S., MUCHOVEJ, J.J. & SANTOS, J.M. dos. Detecção, isolamento, identificação e avaliação "in vitro" da capacidade predatória de fungos nematófagos de solos brasileiros. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 16 p. 85-86, 1992.

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. Fungi attacking vermiform nematode. In: POINAR JUNIOR, G. O.; JANSSON, N. B. **Disease of nematodes**. Boca Raton, 1988. p. 3-38.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Infection events in the fungus-nematode system. In: PAINAR Fr., G. O.; JANSSON, H. G. **Disease of nematodes**. Boca Raton, 1988, v.2. p. 59-72.

LIMA, R. D. **Caracterização de Isolados e Avaliação da Patogenicidade de *Arthrobotrys* spp. a Fitonematóides**. 1996. 88f. Tese (Doutorado em Fitopatologia)- Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

LOPEZ-LORCA, L. V.; DUNCAN, G. H. Effect of fungal parasitic cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) from naturally infest soil – a scanning electron microscopy study. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v. 37, p. 218-225, 1991.

MAIA, A. S. **Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines***. 2000. 117f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista de Jaboticabal, Jaboticabal, 2000.

MAIA, A. S.; GRAMINHA, E. B. N.; NUNES, T. L. S.; VERONEZ, V. A.; SANTOS, J. M.; OLIVEIRA, J. C. Microscopia eletrônica de varredura da habilidade predatória de agentes do biocontrole de nematóides. **Semina: Ci. Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 113 -120, 2001.

MAIA, A. S.; FERRAZ, S.; DALLA PRIA, M. Detecção, isolamento e identificação de *Monacrosporium* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 17; 1993, Jaboticabal, **Resumos...** Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1993. p.69.

MAIA, A.S.; SANTOS, J.M. dos. Microscopia eletrônica de varredura das estruturas de captura de alguns fungos nematófagos. In: INTERAMERICAM CONFERENCE ON ELECTRON MICROSCOPY, 3, 1995, Caxambu. **Anais...** Caxambu: [s.n.], 1995. p. 304.

MAIA, A. S., SANTOS, J. M. dos. A SEM technique for preparing biological control agents of nematodes in action. **Acta Microscopica**, Caracas, v. 7, Suppl. B, 1997. p. 550.

MAIA, A. S.; SANTOS, J. M. dos. SEM study of nematophagous fungi in action. **Acta Microscopica**, Caracas, v. 8, n. Suppl. C, p. 625-617, 1999.

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

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

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

MIZOBUTSI, E. H.; FERRAZ, S.; RIBEIRO, R. C. F.; MENEZES, M. Isolamento de fungos de ovos de *Heterodera glycines* coletados em diferentes regiões produtoras de soja do Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 69-75. 1999.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Fungal biocontrol for the management of nematode. In: VEECH, J. A.; DICKINSON, D. W. **Vistas on nematology**. Maryland: Society of Nematologists, 1987. p.49-88.

NAVES, R. L.; CAMPOS, V. P. Ocorrência de fungos predadores de nematóides no Sul de Minas Gerais e estudos da capacidade predatória e crescimento in vitro de alguns de seus isolados. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 15, n. 1, p.152-162. 1991.

NORDBRING-HERTZ, B. Peptide-induced morphogenesis in the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Physiologia Plantarum**, Frederiksberg, v. 29, p. 223-233, 1973.

RIBEIRO, R. C. F.; FERRAZ, S.; MIZOBUTSI, E. H.; MENDEZ, M. Levantamento de espécies de *Monacrosporium* predadores de nematóides em diversas regiões brasileiras. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v.23, n.2, p.40-47, 1999.

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 em solos do Brasil**. 1991. 97f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

SANTOS, M. A. **Estudo de alguns fungos endoparasitos e predadores no controle de fitonematóides.** 1996. 166f. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

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 – AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UMA FORMULAÇÃO DE CINCO FUNGOS NEMATÓFAGOS PARA O MANEJO DE *Tylenchulus semipenetrans* EM CITROS

RESUMO

O nematóide dos citros *Tylenchulus semipenetrans* é uma das pragas-chave da citricultura no Brasil e no mundo. Essa espécie de nematóide possui três raças fisiológicas: a raça “citros”, a raça “mediterrânea” e a raça “poncirus”, sendo que a predominante nas Américas é a raça citros. As perdas causadas por essa espécie de nematóide foi comprovada com uso de nematicidas em pré e pós-plantio. O manejo integrado de nematóides na cultura com uso de diversas técnicas vem sendo utilizado em todo o mundo, e entre as técnicas de manejo utilizadas, o controle biológico ganha destaque pela eficácia comprovada por vários pesquisadores. O estudo teve o objetivo de avaliar a eficácia do manejo de *T. semipenetrans* em pomar comercial de citros, utilizando-se de uma formulação contendo cinco espécies de fungos nematófagos, *Monacrosporium eudermatum*, *Dactylella leptospora*, *Arthrobotrys musiformis*, *A. conoides* e *Paecilomyces lilacinus*, veiculados em bagaço de cana e farelo de arroz. Os tratamentos foram: 0; 1; 2; 4 e 6 L do substrato colonizado pelos fungos/planta, 1 L do substrato colonizado pelos fungos/planta + 200g de AO-15 (adubo orgânico da empresa Nutrisafra, composto por 8% de carbono orgânico, 8% de cálcio e 15% de fosfato natural), 200 g de AO-15, 1 L do substrato colonizado pelos fungos/planta + 4 L de Agrolmin® AH (ácidos fúlvicos e húmicos da empresa Agrolatino), 4 L de Agrolmin® AH e 130 g/planta de aldicarb (Temik® 150G). A formulação dos cinco fungos nematófagos, em todas as doses testadas, propiciou maior eficácia no controle de *T. semipenetrans* que o tratamento com aldicarb, entretanto, não diferiram estatisticamente. A melhor dose para o controle da população do nematóide foi a de 2 L da formulação por planta com redução da população de *T. semipenetrans* nas raízes, da ordem de 97% e de 99% do número de ovos. O tratamento químico com aldicarb, com o adubo orgânico AO-15 da Nutrisafra e com o produto Agrolmin AH, da Agrolatino,

também propiciaram reduções lineares da população do nematóide nas raízes, embora inferiores às obtidas com a formulação dos fungos; mas, no solo, esses tratamentos propiciaram reduções iniciais da população do nematóide, até em torno dos 60 após a aplicação, com tendência para o restabelecimento da população do nematóide até o final do período de avaliação de 90 dias.

Palavras-chave: Controle biológico, nematóide dos citros, *Tylenchulus semipenetrans*, fungos nematófagos, manejo de nematóides em citros.

INTRODUÇÃO

O nematóide dos citros *Tylenchulus semipenetrans* Cobb é uma das pragas-chave da citricultura no Brasil e no mundo (SANTOS et al., 2006). Esse nematóide ataca mais de 75 espécies de rutáceas. Além dos citros (*Citrus* spp.) e seus híbridos, também ataca o caquizeiro (*Diospyrus kaki* Thumb.), a oliveira (*Olea europea* L.) e a videira (*Vitis* spp.), conforme menção de DUNCAN (2005). Essa espécie de nematóide possui três raças fisiológicas, a saber: a raça “citros”, a raça “mediterrânea” e a raça “poncirus”, sendo que a predominante nas Américas é a raça citros (O'BANNON & FORD, 1977). CAMPOS (2002), em levantamento da distribuição de *T. semipenetrans* em pomares comerciais de citros no Estado de São Paulo, estimou que, em 70 a 90% dos pomares, havia a presença do patógeno.

As opiniões sobre as perdas causadas por esse nematóide eram controversas até que o uso de nematicidas em pré e pós-plantio evidenciou a importância econômica da praga (O'BANNON & TARJAN, 1973).

Segundo estimativas de SASSER & FREKMAN (1987), as perdas anuais causadas pelos nematóides nos citros podem ultrapassar 14,2% da produção mundial. O sucesso econômico e ecológico do manejo de *T. semipenetrans* e de outras espécies de nematóides requer a adoção de várias medidas de manejo combinadas, como exclusão, medidas preventivas, utilização de cultura não-hospedeira na renovação de velhos pomares infestados, controle químico, variedades resistentes de porta-enxertos

e o controle biológico, entre outros (LUCAS-VERDEJO & MACKENRY, 2004). Vários outros autores relataram que o controle biológico com uso de fungos nematófagos ou até mesmo com a bactéria *Pasteuria penetrans*, associados ou não ao controle químico, podem ser viáveis (REDDY et al., 1996abc; FATTAH et al., 1989; JATALA, 1986; OSMAN & SALEM, 1995). DAVID & DAVID (1990) observaram em pomares de citros que a população de *T. semipenetrans* tinha mais de 11 espécies de microrganismos antagonistas associados, sendo que a grande maioria eram fungos nematófagos. MARTINELLI & SANTOS (2007), em estudos de microrganismos associados com *T. semipenetrans* em pomares de citros do Estado de São Paulo, isolaram 32 fungos nematófagos, sendo 17 patogênicos a *T. semipenetrans* e com potencial de uso no controle biológico desse nematóide. CORBANI (2002), em experimento de controle biológico de *T. semipenetrans* com *Monacrosporium robustum*, *Paecilomyces lilacinus* e *Arthrobotrys oligospora*, em pomar de laranja Variedade Hamlin obteve resultados semelhantes aos tratamentos-testemunha com aldicarb, demonstrando a viabilidade do uso de fungos nematófagos no controle dessa praga. Em estudos com uso de bionematicidas, SPIEGEL et al. (1989) observaram redução de 50 a 90% da população de *T. semipenetrans* em duas variedades de laranja. OSMAN & SALEM (1995), em teste com Sincocin AGTM, notaram uma redução na população de nematóides, tanto nas raízes como no solo, além de um aumento na população de antagonistas no solo.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficácia do manejo de *T. semipenetrans* em pomar comercial de citros, utilizando-se de uma formulação contendo cinco fungos nematófagos.

MATERIAL E METÓDOS

O experimento foi conduzido na Fazenda São Sebastião, no Município de Monte Alto-SP, em pomar de Laranja (*Citrus sinensis*) variedade Valência, enxertada sobre limão-cravo (*Citrus limonia*), com 20 anos de idade, no período de novembro de 2007 a janeiro 2008. As parcelas continham cinco plantas no espaçamento de 7 x 5 m, em Latossolo Amarelo, cuja análise química está contida no Apêndice 1. As parcelas foram

marcadas e amostradas, e uma amostra de solo e raízes de cada parcela composta de três subamostras foi coletada para avaliação da população inicial dos nematóides, nas três plantas centrais da parcela e as duas (inicial e final) sendo mantidas como bordadura. Os seguintes tratamentos foram adotados: 0; 1; 2; 4 e 6 L do substrato colonizado pelos fungos/planta, 1 L do substrato colonizado pelos fungos/planta + 200g de AO-15 (adubo orgânico da empresa Nutrisafra, composto por 8% de carbono orgânico, 8% de cálcio e 15% de fosfato natural), 200 g de AO-15, 1 L do substrato colonizado pelos fungos/planta + 4 L de Agrolmin® AH (ácidos fúlvicos e húmicos da empresa Agrolatino), 4 L de Agrolmin® AH e 130 g/planta de aldicarb (Temik® 150G) como comparativo. Foram conduzidas quatro repetições distribuídas no delineamento em blocos ao acaso (DBC).

Os fungos *Monacrosporium eudermatum*, *Dactylella leptospora*, *Arthrobotrys musiformis*, *A. conoides* e *Paecilomyces lilacinus* foram formulados em bagaço de cana e farelo de arroz, conforme proposto por SOARES et al. (2005a e b) e ilustrado nas Figuras 1; 2 e 3. Os fungos, individualmente, foram inoculados no substrato e incubados à temperatura ambiente no escuro. Após a completa colonização no substrato, partes iguais de substrato 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. Em seguida, a superfície do solo tratado foi recoberta com uma camada de bagaço de cana para proteger a formulação dos fungos contra a incidência direta da luz do sol (Figuras 4; 5 e 6). As avaliações foram realizadas aos 30; 60 e 90 dias após a aplicação, coletando-se amostras de solo e raízes sob a copa das três plantas centrais da parcela. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da FCAV, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964) e das raízes pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, a população de nematóides nas amostras foi estimada ao microscópio fotônico, com auxílio da câmara

de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970). Os dados foram submetidos à análise de regressão, e as retas, comparadas pelo teste de paralelismo e coincidência das retas.



Figura 1: Formulação do composto para produção massal dos fungos nematófagos (1L de bagaço de cana-de-açúcar, 500 mL de farelo de arroz e 200 mL de água).



Figura 2: Formulação pronta para ser inoculada com os fungos nematófagos.



Figura 3: Formulação colonizada pelos fungos, pronta para aplicação no campo.



Figura 4: Aplicação da formulação dos cinco fungos nematófagos no campo, antes da incorporação.



Figura 5: Incorporação da formulação no solo, após a aplicação.



Figura 6: Cobertura do solo com bagaço de cana, após aplicação da formulação dos cinco fungos e os outros tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1; 2; 3; 4 e 5 estão representados os dados da análise do teste de paralelismo e coincidência das retas. A Figura 7 representa a curva de tendência da população de juvenis e adultos de *T. semipenetrans* e de seus ovos nas raízes das plantas do tratamento-testemunha. Os dados evidenciam que houve queda de 57% na população de juvenis e adultos do nematóide no período avaliado e um aumento de 9% no número de ovos recuperados das raízes. CAMPOS (2007), em estudo da dinâmica da população de *T. semipenetrans* a campo, demonstrou que o pico mais alto da população desse nematóide ocorre nos meses de inverno, enquanto, no período de verão (chuvoso), a população se encontra nos níveis mais baixos. Tal fato explica a queda da população do nematóide no tratamento-testemunha, pois o início do experimento coincidiu com o início do período chuvoso. Na Figura 8, os dados indicam que a curva de tendência da população do nematóide no solo foi similar à observada

nas raízes. CAMPOS (2007) observou que a maior quantidade de água no solo, aliada a altas temperaturas podem causar a redução na população do nematóide no solo. Como os nematóides encontram as raízes no solo por quimiotaxia, detectando os exsudatos liberados na água do solo pelas raízes, e orientando-se no gradiente de concentração até encontrá-las, é possível que o excesso de água no solo exerça efeitos de diluição e lixiviação dos exsudatos, dificultando o encontro da raiz por parte do nematóide. Outros autores também argumentaram em favor dessa hipótese, ainda que considerando a possibilidade de outros fatores também estarem envolvidos (DUSEMBERY, 1987; HUSSEY & WILLIAMSON, 1998).

Tabela 1: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas nas avaliações de espécimes de *Tylenchulus semipenetrans*, nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', pelos testes F coincidência e T paralelismo.

Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15 fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo.

Tabela 2: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas nas avaliações de ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', pelo teste F, comparando a coincidência das retas.

Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	ns	**	ns	*	*	ns	*
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15 fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo.

Tabela 3: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas nas avaliações de ovos de *Tylenchulus semipenetrans*, nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', pelo teste T, comparando o paralelismo das retas.

Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	*	**	*	*	*	ns	*
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15 fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo

Tabela 4: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas nas avaliações de espécimes de *Tylenchulus semipenetrans* no solo, de plantas de laranja 'Pêra', pelos testes F coincidência e T paralelismo.

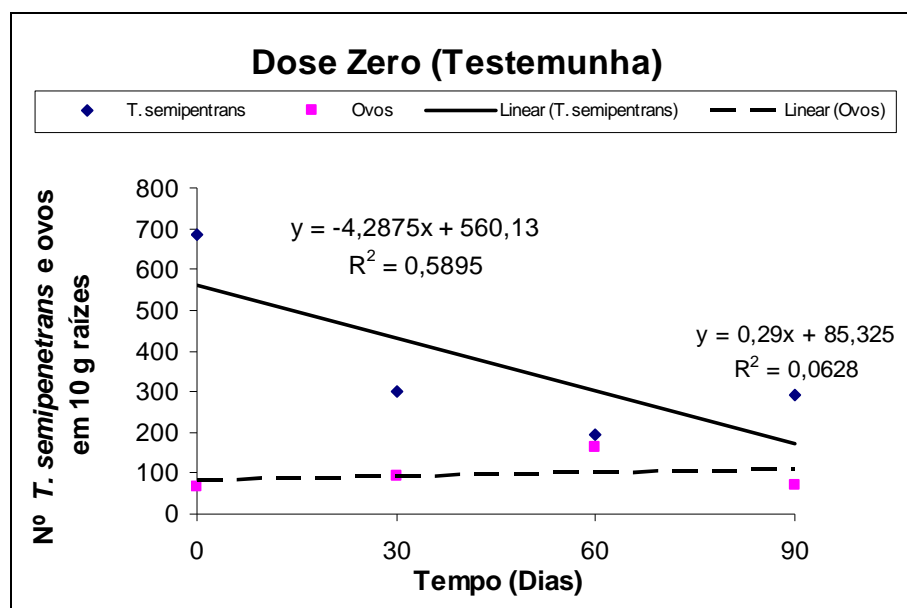
Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15 fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo

Tabela 5: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas nas avaliações de ovos de *Tylenchulus semipenetrans* no solo, de plantas de laranja 'Pêra', pelos testes F coincidência e T paralelismo.

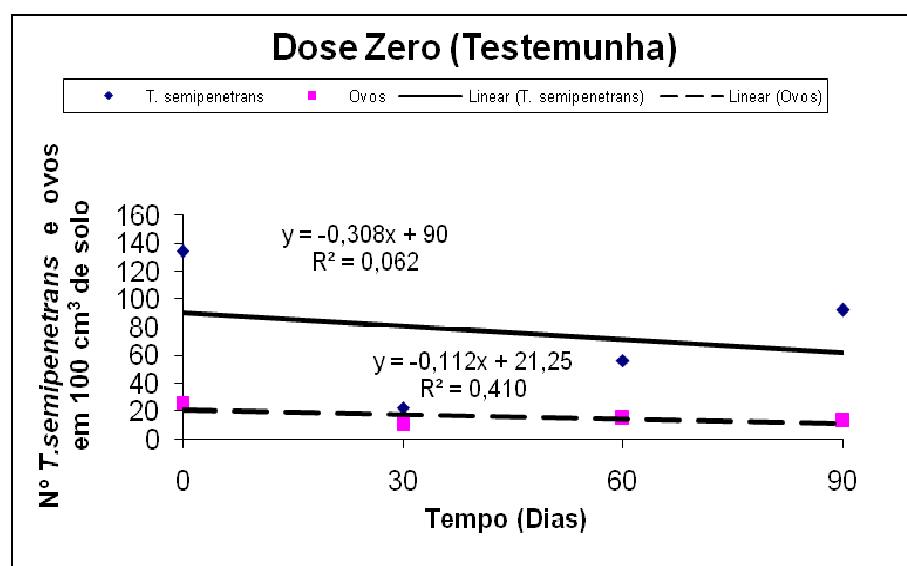
Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15 fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

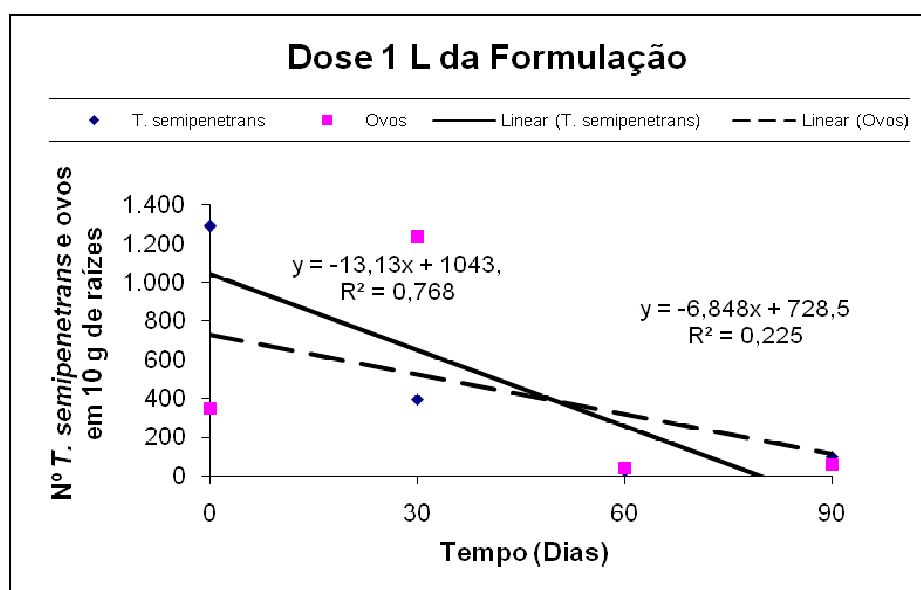
Figura 7: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência' na dose zero (Testemunha), no período de 90 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

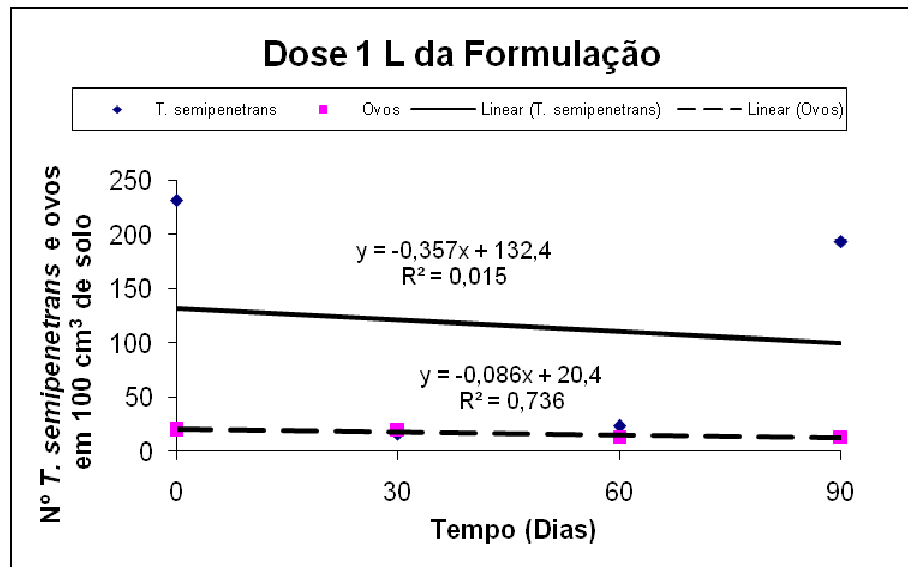
Figura 8: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência' na dose zero (Testemunha), no período de 90 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide em pomar comercial.

A Figura 9 é relativa às curvas ajustadas à dose de 1 L da formulação dos cinco fungos por planta de laranja na avaliação de controle do nematóide nas raízes. Nesse tratamento, observou-se redução de 92% de juvenis e adultos de *T. semipenetrans* e 83% dos ovos. Na Figura 10, referente ao efeito da dose de 1 L da formulação dos fungos/planta sobre a população do nematóide, observou-se queda de 92% até cerca de 45 dias após a aplicação. Depois desse período, até aos 90 dias, a população do nematóide no solo experimentou um período de crescimento, praticamente retornando ao patamar inicial. A população de ovos extraídos pelo método de JENKINS (1964) das amostras de solo exibiu redução de cerca de 35% em todo o período da avaliação. CORBANI (2002), em estudo do controle biológico de *T. semipenetrans*, a campo, com fungos nematófagos, observou que, na dose de 1 kg de quirera de arroz colonizada pelos fungos nematófagos, aplicados isoladamente, houve diferença estatística significativa entre a dose e a testemunha, mas não entre os fungos nas raízes. Entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos no solo.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

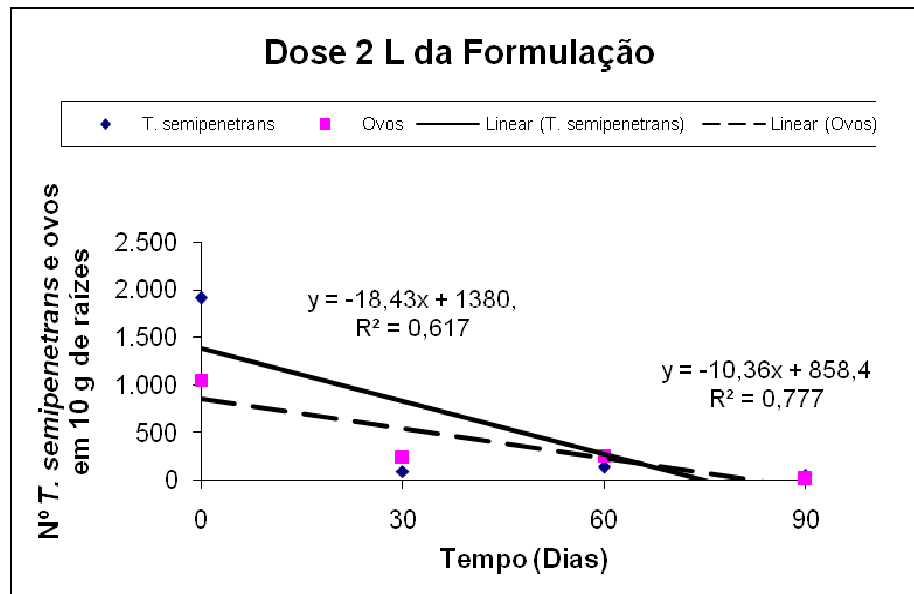
Figura 9: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', na dose de 1 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

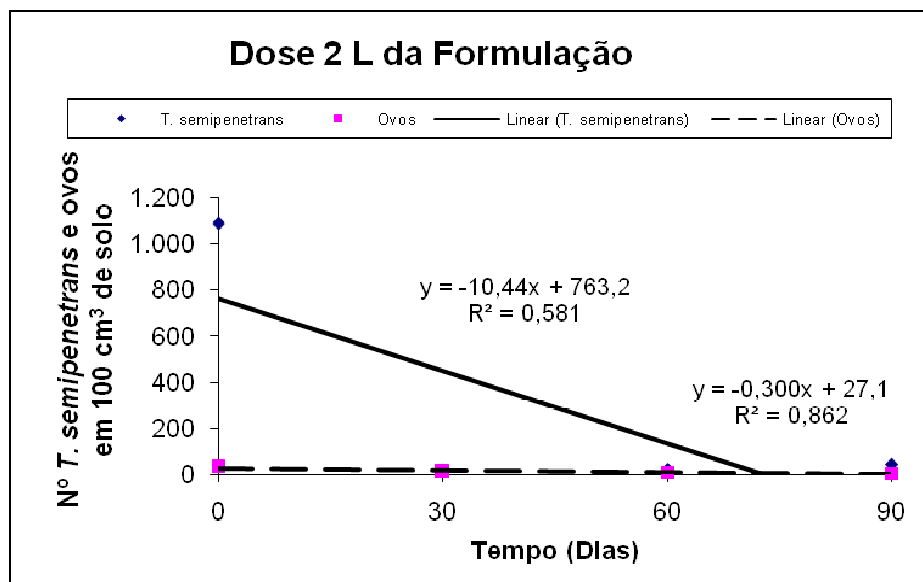
Figura 10: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrens* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 1 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 11 e 12 ilustram as curvas de tendência da população de *T. semipenetrens* e de ovos desse nematóide no período de noventa dias após o tratamento com 2 L da formulação dos fungos/planta, nas raízes e no solo, respectivamente. Em ambos os casos, houve relação linear negativa ao longo do período em estudo. Nas raízes, constatou-se redução na população de juvenis e adultos do nematóide de 97% e de ovos da ordem de 99%. No solo, conforme ilustrado na Figura 12, a redução de juvenis e adultos foi de 96%, enquanto a redução de ovos foi da ordem de 90%. CORBANI (2002) também observou os menores níveis de ovos e de espécimes do nematóide em plantas tratadas com 2 kg de quirera de arroz colonizada por alguns fungos nematófagos, comparado ao tratamento com aldicarb.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

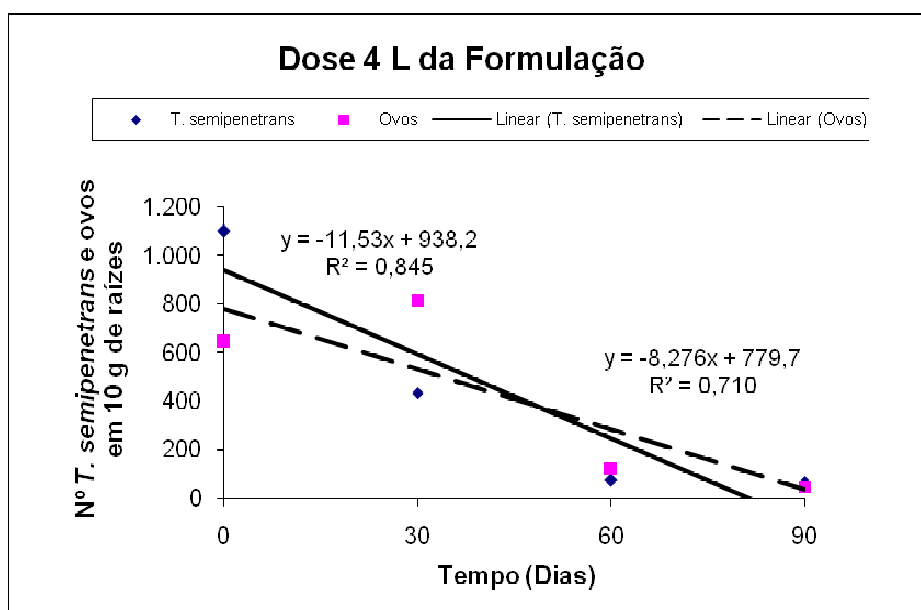
Figura 11: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', na dose de 2 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

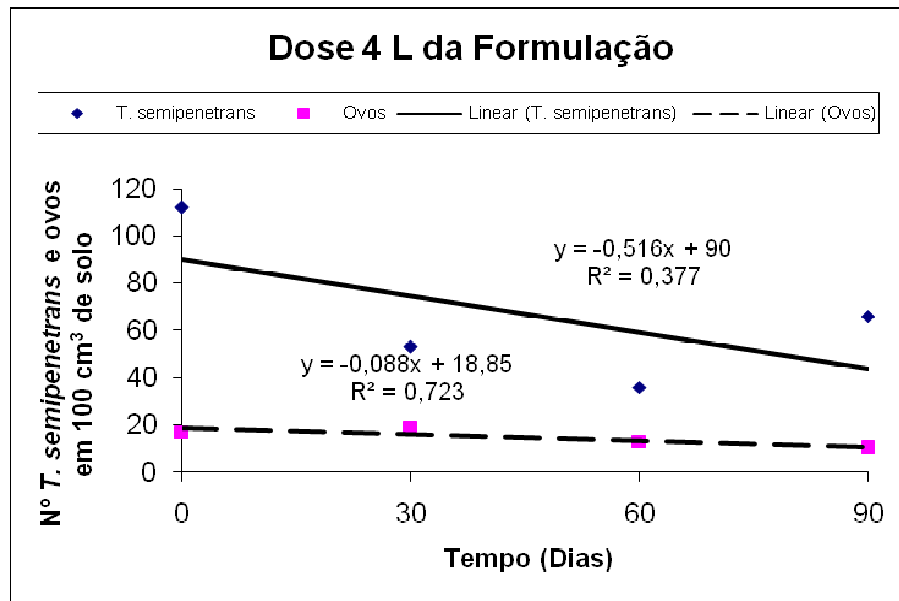
Figura 12: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 2 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 13 e 14 referem-se às mesmas curvas de tendência para a dose de 4 L da formulação dos fungos/planta, no mesmo período de avaliação. Os dados revelam que, nas raízes (Figura 13), a redução foi de 94% da população de espécimes de *T. semipenetrans* e de 93% dos ovos, enquanto, no solo (Figura 14), essa redução foi de 41% em ambos os casos. 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. Entretanto, SOARES (2006), em estudos de controle biológico de fitonematóides com uso de fungos nematófagos, em olerícolas e ornamentais, observou melhoria da eficácia do controle dos nematóides com o aumento da dose aplicada, o que não foi observado no presente estudo.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 13: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



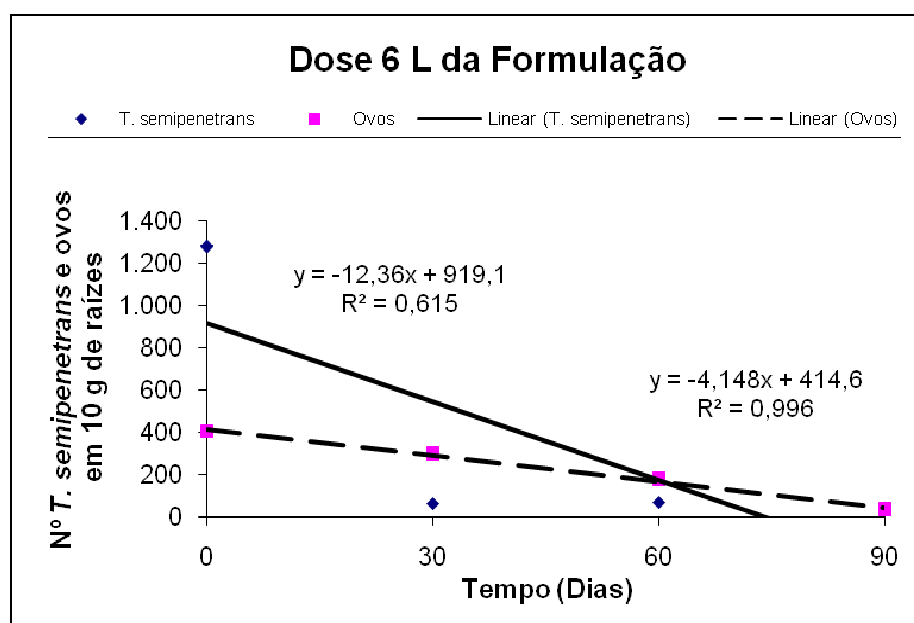
Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 14: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 15 e 16 são relativas à dose de 6 L da formulação dos fungos/planta. Tanto para população de espécimes do nematóide quanto para o número de ovos, a curva de tendência exibiu relação linear negativa nas raízes e no solo. A redução na população de espécimes de *T. semipenetrans* e de seus ovos nas raízes foi de 97 e 92%, respectivamente (Figura 15). No solo, essas percentagens de redução foram de 77 e 26%, respectivamente (Figura 16).

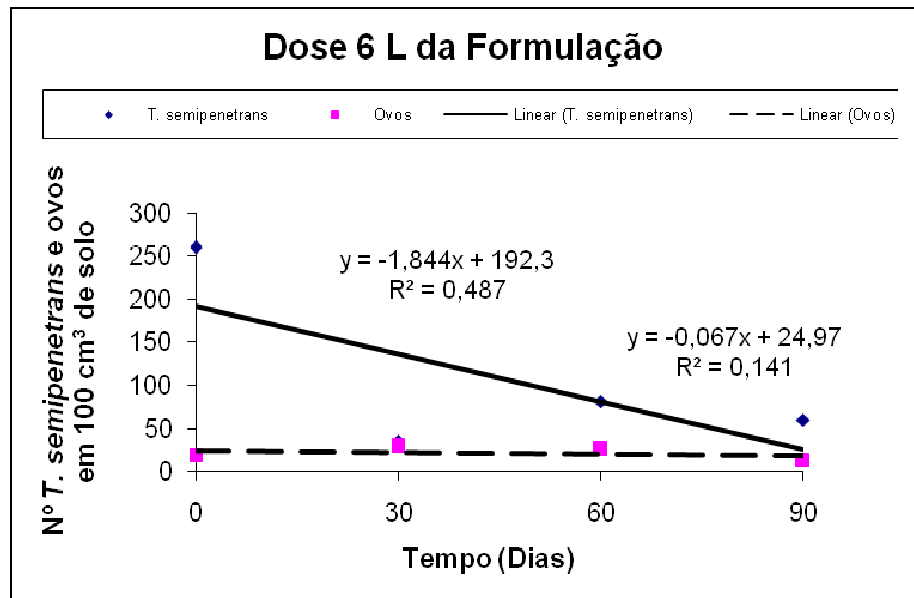
As curvas de tendência para a população do nematóide e de seus ovos com o tratamento aldicarb (Temik® 150 G), nas raízes e no solo, estão nas Figuras 17 e 18. Nas raízes, a curva de tendência, tanto para a população de juvenis e adultos quanto para o número de ovos, foi linear negativa (Figura 17). As percentagens de redução foram de 89% para a população de espécimes e de 43% para a de ovos, inferior, portanto, às percentagens de redução da população de espécimes e de ovos do nematóide obtidas com todas as doses da formulação dos fungos, embora não tenham diferido estatisticamente entre si. No solo, o tratamento com aldicarb evidenciou eficácia

na redução da população do nematóide até 60 dias após a aplicação (Figura 18), sendo que, após esse período, a população do nematóide exibiu tendência de crescimento, de modo que, aos 90 dias, aproximou-se da densidade da população inicial. CAMPOS (2007), em estudo da época de aplicação de aldicarb para o controle de *T. semipenetrans*, demonstrou que, na época das chuvas (novembro a fevereiro), o controle foi insatisfatório, pois a população do nematóide encontrava-se nos níveis mais baixos. Contudo, a eficácia do produto já foi confirmada em pomares infestados com *T. semipenetrans*, uma vez que diferentes pesquisadores já observaram resultados favoráveis do tratamento com aldicarb (GÓES et al., 1982; FRANCO et al., 1984; JAEHN & ALMEIDA 1991; TIHOHOD et al., 1994; NOVARETTI et al., 1997).



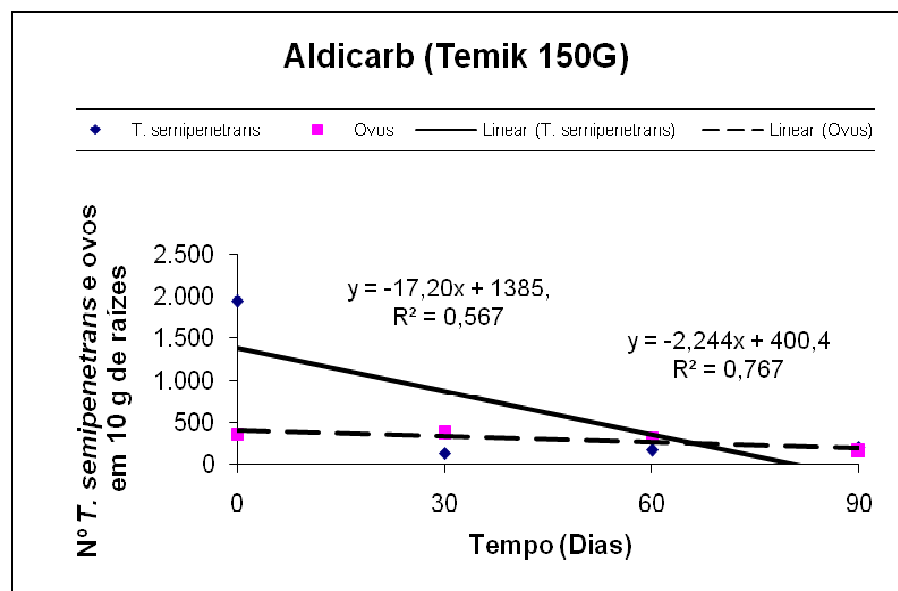
Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 15: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



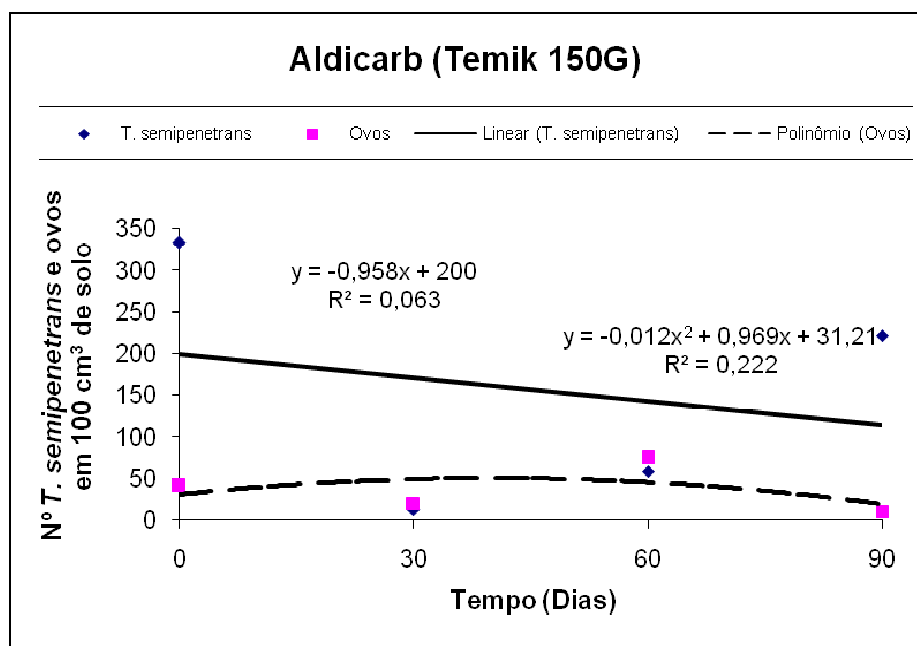
Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 16: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 17: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com aldicarb (Temik® 150G), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

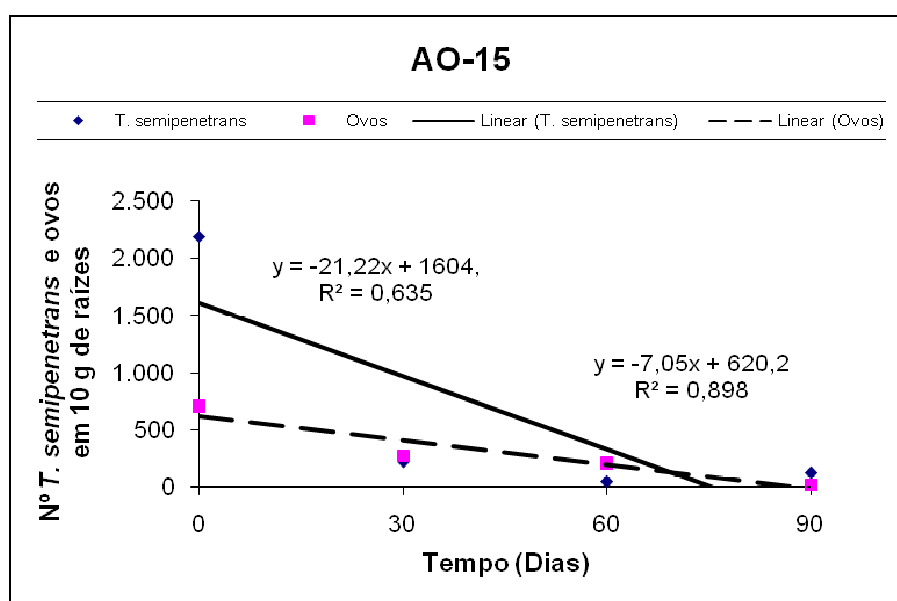


Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 18: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com aldicarb (Temik® 150G), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

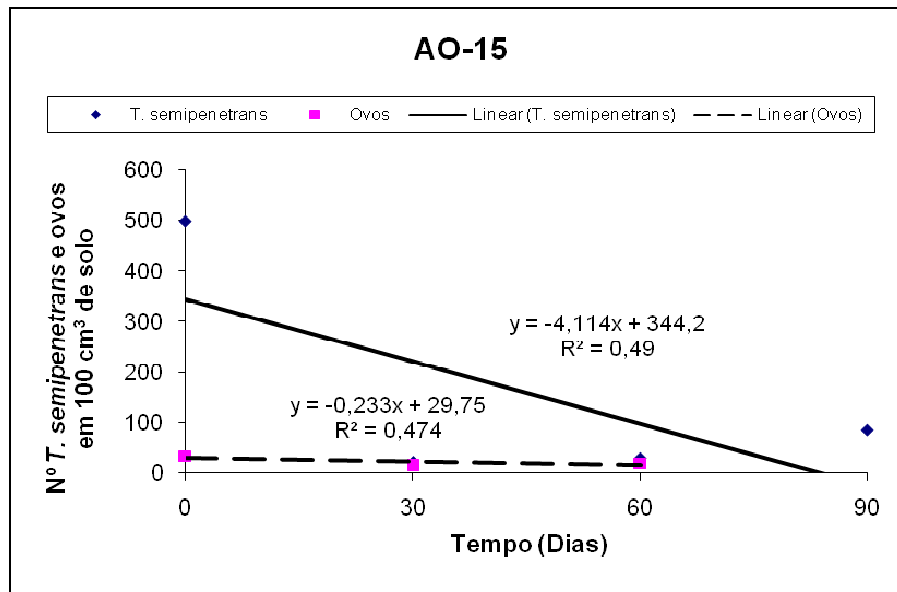
Nas Figuras 19 e 20, estão as curvas de tendência da população de espécimes de *T. semipenetrans* e de seus ovos ajustadas para o período de 90 dias após o tratamento das plantas com o fertilizante orgânico AO-15. Os dados evidenciam redução de 94% na população de espécimes do nematóide e de 97% no número de ovos nas raízes (Figura 19), enquanto, no solo, esses percentuais de redução foram de 83% e 53%, respectivamente (Figura 20). Contudo, a associação do fertilizante orgânico AO-15 com 1 L da formulação dos fungos não resultou em sinergismo. Com efeito, embora a curva de tendência tenha evidenciado relação linear negativa para a população de espécimes do nematóide e de seus ovos, nas raízes das plantas tratadas com a mistura do adubo orgânico e a formulação dos fungos, os percentuais de redução foram menores (89% para espécimes do nematóide e 92% para ovos) do que os obtidos apenas com o adubo orgânico (Figuras 19 e 21). No solo, a curva de tendência da população de espécimes do nematóide foi similar ao observado com

aldicarb, nessa mesma condição (Figura 22). No caso do número de ovos no solo, observou-se uma constante sem muita variação na população (Figura 22). ALVES et al. (2007), em estudo da adição de matéria orgânica (esterco de curral) ao solo, em diferentes níveis, demonstraram que, quanto maior o percentual de esterco, menor era a multiplicação de *Meloidogyne* spp. em tomateiro.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

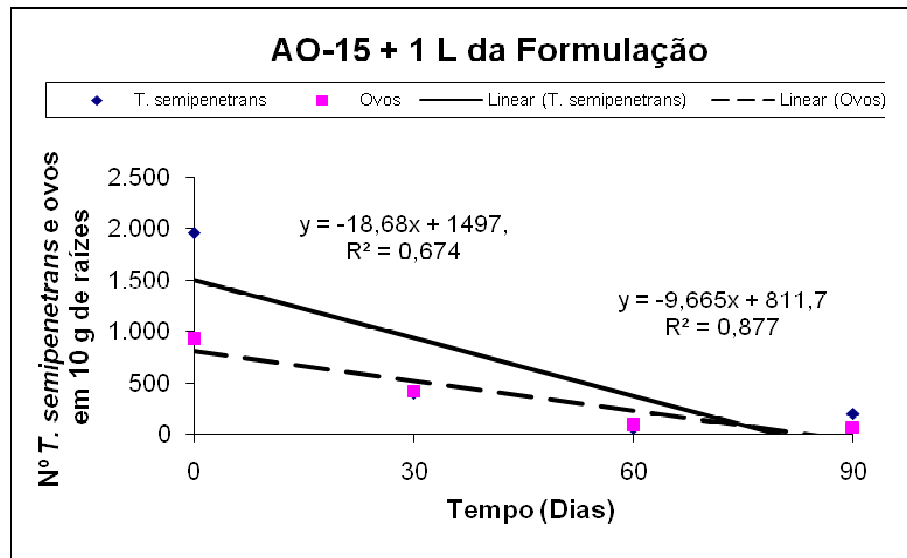
Figura 19: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

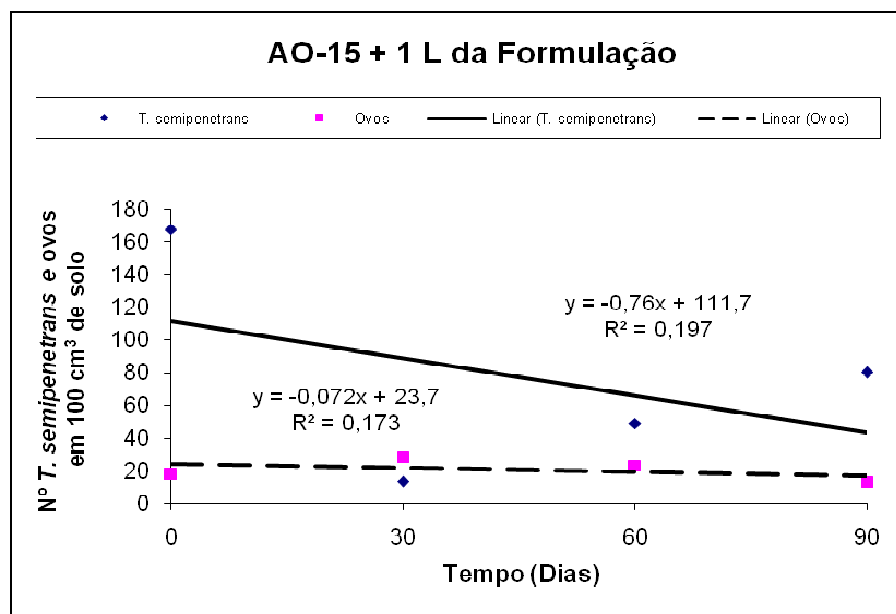
Figura 20: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja ‘Valência’, no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 23 e 24 contêm as curvas de tendência da população de espécimes e de ovos de *T. semipenetrans* nas raízes e no solo, ajustadas para o período de 90 dias após o tratamento com Agrolmin® AH. Nas raízes, a curva de tendência da população de juvenis e adultos do nematóide exibiu uma relação linear negativa ao longo do período de avaliação (Figura 23), enquanto, com o número de ovos, ocorreu acréscimo no número de ovos (Figura 23). No solo, a curva de tendência para a população de juvenis e adultos exibiu o mesmo comportamento observado com aldicarb e com AO15, associado com a formulação dos fungos. Na Figura 24, inicialmente, a população experimentou expressivo decréscimo até próximo de 60 dias, exibindo uma inversão da tendência até o final do período de avaliação, inclusive resultando em densidade final da população 46% maior que a densidade inicial. No caso do número de ovos, houve uma relação linear positiva com aumento de 173% em relação ao número inicial, refletindo o expressivo aumento da população de juvenis e adultos do nematóide no período (Figura 24).



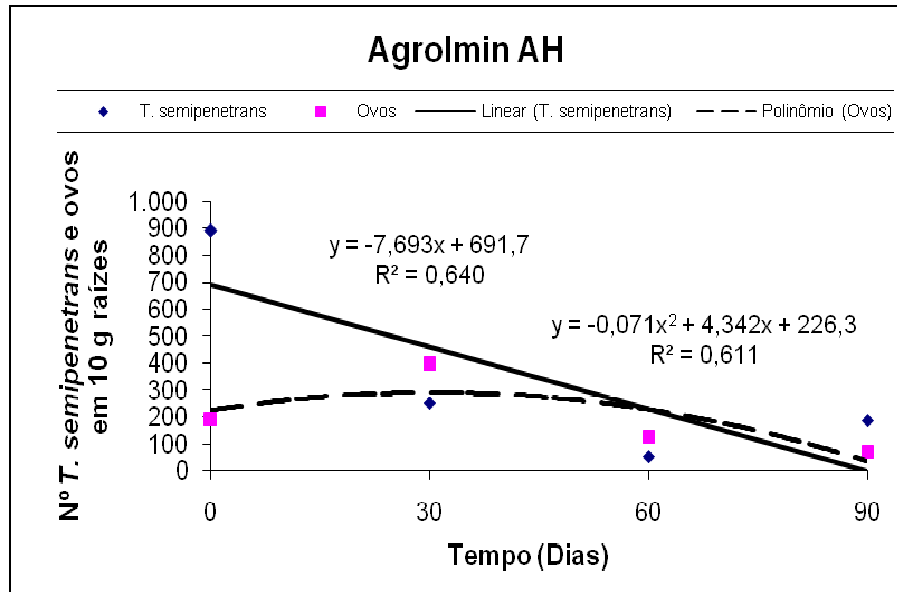
Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 21: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



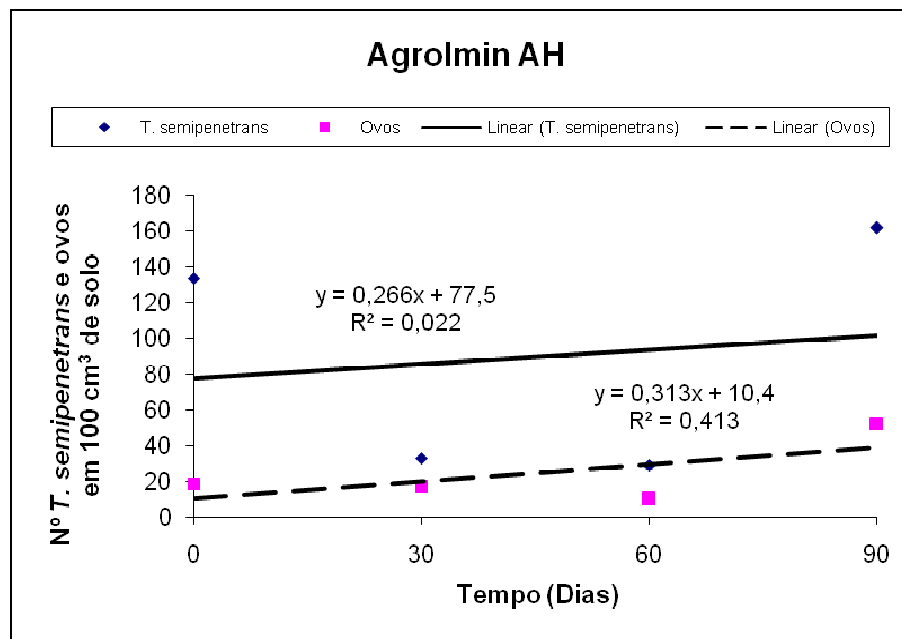
Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 22: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

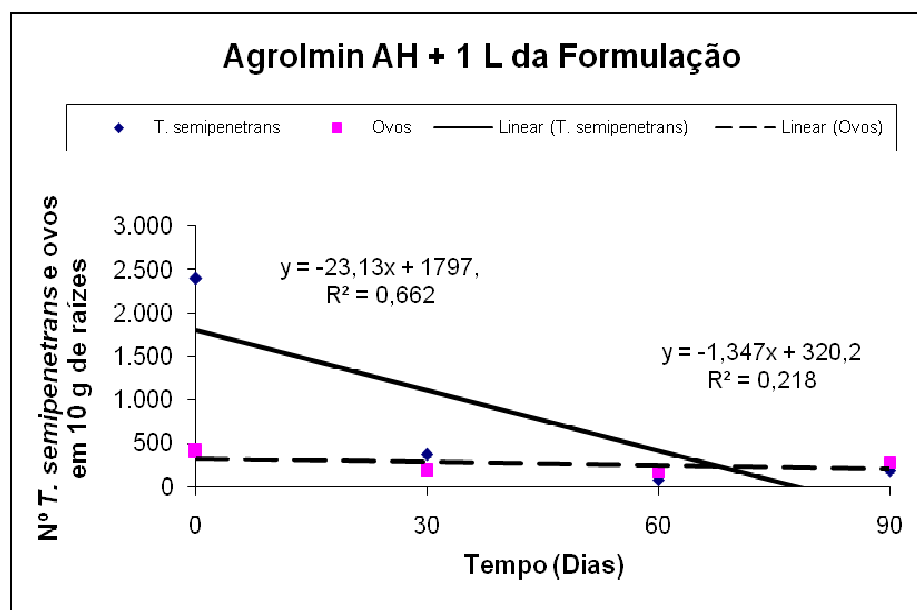
Figura 23: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

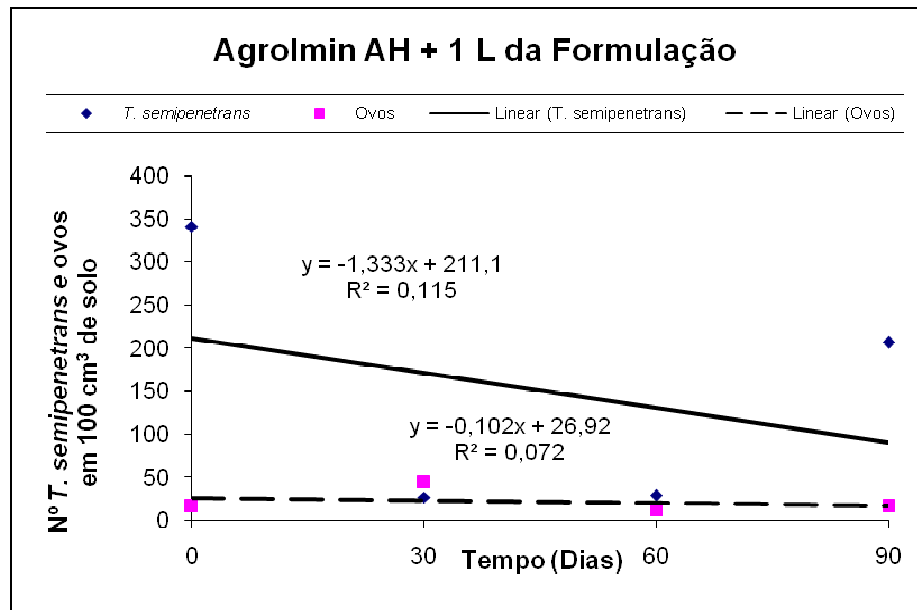
Figura 24: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 25 e 26 referem-se às curvas de tendência da população de juvenis e adultos e de ovos de *T. semipenetrans*, nas raízes e na rizosfera, respectivamente, de plantas de laranjeira tratadas com a mistura de Agrolmin AH com 1 L da formulação dos fungos nematófagos. Nas raízes, a curva de tendência foi linear negativa com $R^2 = 0,663$ para a população de juvenis e adultos do nematóide com redução de 92% da população inicial, em todo o período da avaliação (Figura 25). Nesse mesmo período, a curva de tendência para o número de ovos, mostra uma pequena redução inicial até ao redor de 30 dias e, após esse período, manteve-se constante (Figura 25). No solo, a curva de tendência de juvenis e adultos do nematóide exibiu o mesmo comportamento observado no caso do aldicarb e do adubo orgânico AO15 associado à formulação dos fungos (Figura 26). No caso do número de ovos, houve ligeiro acréscimo inicial, até cerca dos 60 dias após a aplicação, com decréscimo depois desse período até o final da avaliação (Figura 26).



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 25: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* nas raízes de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Regressões lineares significativas a 5% de probabilidade.

Figura 26: Curvas de tendência da população de espécimes e ovos de *Tylenchulus semipenetrans* na rizosfera de plantas de laranja 'Valência', no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 90 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo dão suporte às seguintes conclusões:

1. Uma formulação de cinco fungos nematófagos em citros propiciou maior eficácia no controle de *T. semipenetrans* que o tratamento com aldicarb, em todas as doses testadas, mas não diferindo, estatisticamente, um tratamento do outro como da testemunha.
2. A melhor dose para o controle da população do nematóide foi a de 2 L da formulação por planta com redução da população de *T. semipenetrans* nas raízes, da ordem de 97%, não diferindo, estatisticamente, das demais; porém, para ovos, a melhor dose foi de 6 L da formulação, diferindo da testemunha a 1% de probabilidade.

3. A aplicação da formulação dos fungos resulta em reduções lineares da população de espécimes e de ovos do nematóide tanto no solo quanto nas raízes.
4. O tratamento químico com aldicarb, com o adubo orgânico AO 15 da Nutrisafra e com o produto Agrolmin AH da Agrolatino, também propiciou reduções lineares da população do nematóide nas raízes, embora inferiores às obtidas com a formulação dos fungos, mas, no solo, esses tratamentos propiciaram reduções iniciais da população do nematóide, até em torno dos 60 dias após a aplicação, com tendência para o restabelecimento da população do nematóide até o final do período de avaliação de 90 dias; contudo, não diferindo, estatisticamente, dos demais tratamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F. R.; FREITAS, L. G.; MARTINELLI, P. R. P.; MEIRA, R. M. S. A.; FERRAZ, S.; DEMUNER, A. J.; BORGES, E. E. L.; JESUS JUNIOR, W. C. Efeitos de diferentes níveis de matéria orgânica no solo e de inóculo sobre a interação planta-*Meloidogyne* spp. e a produção massal de *Pasteuria penetrans*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, p. 396-400, 2007.

CAMPOS, A. S. **Distribuição de *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni* em citros, no estado de São Paulo, e estudo morfométrico comparativo de populações anfimíticas de *Pratylenchus* spp.** 2002, 65f. (Mestrado em Agronomia, área de concentração Entomologia Agrícola). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

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.** 2007, 52 f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração

Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

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

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

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

DUNCAN, L. W. Nematode parasites of citrus. In: LUC, M; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**, 2^a ed. Wallingford: CAB International, 2005. 871p.

DUSENBERY , D. B. Prospects for exploiting sensory stimuli nematode control. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. **Vistas on Nematology.** DeLeon Springs: Society of Nematologists, 1987. p. 131-135.

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

FRANCO, J. F.; POMPEO JUNIOR, J.; TEOFILO SOBRINHO, J; LORDELLO, L. G. E. Resultados preliminares de controle do nematóide dos citros, *Tylenchulus semipenetrans*, com defensivos granulados sistêmicos de solo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 8, p. 24, 1984.

GOES, A.; VASCONSELLOS, H. O.; ZEM, A. C. Ocorrência e controle de nematóides associados a citros no Estado do Rio de Janeiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 5, p. 221-231, 1982.

HUSSEY, R. S.; WILLIAMSON, V. M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998. p. 87-108, 1998.

JAEHN, A. & ALMEIDA, E. P. Observações de prejuízos de *Tylenchulus semipenetrans* em limão. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 15, p. 202-203, 1991.

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

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

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

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**, Jaboticabal, v. 33, supl., p. 23, 2007.

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.

O'BANNON, J. H.; TARJAN, A. C. Preplant fumigation for citrus nematode control in

Florida. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.5, n. 2, p. 88-94, 1973.

O'BANNON, J. H.; FORD, H. W. Resistance in citrus rootstocks to *Radopholus similis* and *Tylenchulus semipenetrans* (Nematoda). **Proc. Int. Soc. Citricult.**, Michigan, v.2. p. 414-417, 1977.

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. 179-81, 1995.

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.

SANTOS, J. M.; CAMPOS, A. S.; AGUILAR-VIDOSO, C. I. Nematóide dos citros. In: MATOS Jr., D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU Jr., J. (ed). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2006. p. 606-628.

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**. Hyattsville: 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, 2005a. p. 67.

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, 2005b. p. 68.

SOARES. P. L. M. **Estudos do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos.** 217 f. Tese de Doutorado (Doutorado e Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2006.

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

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.

TIHOHOD, D.; FERNANDES, M. C.; GARCIA, J. N.; PINTO, R. A.; GALLÃO, R. V. Adequação da dosagem de aldicarbe no controle de *Tylenchulus semipenetrans* no plantio adensado de citrus. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.18, p. 10-11, 1994.

CAPITULO 5 - AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UMA FORMULAÇÃO DE CINCO FUNGOS NEMATÓFAGOS PARA O MANEJO DE *Pratylenchus jaehni* EM CITROS

RESUMO –São consideradas pragas-chave da cultura, no Brasil, o nematóide dos citros (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) e o nematóide das lesões radiculares dos citros (*Pratylenchus jaehni* Inserra et al.). Entre esses, *T. semipenetrans* é o mais distribuído, mas *P. jaehni* é o mais agressivo. Esse fitonematóide já foi encontrado em pomares de mais de 30 municípios paulistas, dois mineiros e três paranaenses. Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficácia de uma formulação de cinco fungos nematófagos no manejo biológico de *P. jaehni*. Doses de 1; 2; 4 e 6 L por planta, de uma formulação constituída por partes iguais da mistura de bagaço de cana com farelo de arroz colonizada, individualmente, pelos fungos *Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum* foram testadas a campo, em pomar de laranja ‘Pêra’ infestado por *P. jaehni*, no município de Itápolis, SP. O tratamento com aldicarb, na dosagem de 130 g por árvore, foi incluído como comparativo. Os tratamentos relativos a 1 L da formulação de fungos, mais 200 g do adubo orgânico AO- 15/planta e 1 L da formulação de fungos, mais 4 L de Agrolmin AH/planta também foram incluídos no estudo. As doses de 1 e 2 L da formulação dos fungos nematófagos foram mais eficazes que doses mais altas, superando o tratamento do solo com aldicarb para o controle de *P. jaehni*, tanto no solo quanto nas raízes de citros. A aplicação da formulação dos fungos nematófagos, em mistura com Agrolmin AH ou com o adubo orgânico AO-15, não aumentou a eficiência do tratamento com os fungos nematófagos. Os dados obtidos confirmam que a formulação contendo os cinco fungos nematófagos empregada no estudo é eficaz para o controle biológico de *P. jaehni* em citros.

Palavras-chave: Controle biológico, nematóide das lesões radiculares dos citros, fungos nematófagos, *Pratylenchus jaehni*.

INTRODUÇÃO

Numerosas espécies de fitonematóides já foram associadas com plantas de citros em todo o mundo (DUNCAN, 2005). Contudo, apenas duas espécies são consideradas pragas-chave para a citricultura brasileira: o nematóide dos citros, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, e o nematóide das lesões radiculares dos citros, *Pratylenchus jaehni* Inserra et al. (INSERRA et al., 2001; SANTOS et al., 2006). Em levantamento realizado por CAMPOS (2002), foi constatada a presença de *P. jaehni* em cerca de 1% dos pomares comerciais e viveiros do Estado de São Paulo, sendo que em 2004, essa porcentagem já havia ultrapassado os 2,5% dos pomares infestados no Estado (SANTOS et al., 2006).

As perdas causadas por essa espécie de nematóide não estão bem definidas por ser uma espécie descrita recentemente. Contudo, TERSI et al. (1995) mencionaram que pomares de citros infestados por *P. jaehni*, no Município de Itápolis-SP, tiveram produção três vezes menor, comparada à de pomares não-infestados. Em Palestina-SP, observou-se que, em pomar infestado pelo nematóide, após um elevado déficit hídrico, ocorreu elevada queda de folhas em plantas de reboleiras, inclusive com a morte de algumas delas, conforme menção de SANTOS et al. (2006). SASSER & FRECKMAN (1987) também estimaram perdas anuais causadas por nematóides em citros de 14,2% da produção mundial.

Atualmente, o manejo de *P. jaehni* é exclusivamente feito com uso de produtos químicos (nematicidas), além de utilização de mudas isentas do patógeno. A utilização de porta-enxertos resistentes ainda não é usual, pois os porta-enxertos resistentes são suscetíveis à seca (CALZAVARA, 2007).

O controle biológico surge como alternativa de manejo muito promissora no controle dessa praga, devido a pressões por parte da sociedade para que a produção de alimentos seja cada vez mais segura e sem contaminação dos agroecossistemas. MARTINELLI & SANTOS (2007bc), realizando teste *in vitro* com três espécies de *Arthrobotrys*, no controle de *P. jaehni*, concluíram que essas três espécies são efetivas no controle dessa praga. Também, testando *Monacrosporium* sp. e *Dactylella* sp., *in vitro*, demonstraram a efetividade dessas duas espécies no controle biológico de *P.*

jaehni com potencial de uso a campo. BECARO et al. (2005 e 2006) demonstraram que *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Dactylella* sp. foram agentes eficientes no controle de *P. jaehni in vitro*, podendo ser utilizados no manejo dessa praga.

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o controle de *P. jaehni* em pomar comercial de citros com uma formulação de cinco fungos, a saber: *Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Sítio das Antas, no Município de Itápolis-SP, em pomar de Laranja (*Citrus sinensis*), variedade Pêra, enxertada sobre limão-cravo (*Citrus limonia*), com 25 anos de idade, no período de outubro de 2007 a janeiro de 2008. As parcelas continham cinco plantas no espaçamento de 7 x 5 m, em Latossolo Amarelo, cuja análise química está contida no Apêndice 2. As parcelas foram marcadas e amostradas, sendo que uma amostra de solo e de raízes de cada parcela, composta de três subamostras, foi coletada para avaliação da população inicial dos nematóides, nas três plantas centrais da parcela, e as duas (inicial e final) sendo mantidas como bordadura. Os seguintes tratamentos foram adotados: 0; 1; 2; 4 e 6 L da formulação dos fungos/planta, 1 L da formulação dos fungos/planta + 200g de AO-15 (adubo orgânico da empresa Nutrisafra, composto por 8% de carbono orgânico, 8% de cálcio e 15% de fosfato natural), 200 g de AO-15, 1 L da formulação dos fungos/planta + 4 L de Agrolmin® AH (ácidos fúlvicos e húmicos) da empresa Agrolatino, 4 L de Agrolmin® AH e 130 g/planta de aldicarb (Temik® 150 G) como comparativo. Foram adotadas quatro repetições distribuídas no delineamento em blocos ao acaso (DBC).

Os fungos *Arthrobotrys robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *Dactylella leptospora* e *Monacrosporium eudermatum* foram formulados em bagaço de cana e farelo de arroz, conforme proposto por SOARES et al. (2005a e b). Os fungos, individualmente, foram inoculados no substrato e incubados à temperatura ambiente, no escuro. 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. Em seguida, a superfície do solo tratado foi recoberta com uma camada de bagaço de cana para proteger a formulação dos fungos contra a incidência direta da luz do sol (Figuras 4 – 6, Capítulo 4). As avaliações foram realizadas aos 30; 60 e 90 dias após a aplicação, coletando-se amostras de solo e de raízes sob a copa das três plantas centrais da parcela. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, etiquetadas e transportadas para o Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, onde foram processadas. Os nematóides foram extraídos das amostras de solo pelo método da flotação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964), e os das raízes pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). A seguir, a população de nematóides nas amostras foi estimada ao microscópio fotônico, com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970). Os dados foram submetidos à análise de regressão, e as retas, comparadas pelo teste de paralelismo e coincidência das retas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1; 2 e 3, estão representados os dados da análise do teste de paralelismo e coincidência das retas.

Tabela 1: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de *Pratylenchus jaehni*, nas raízes de plantas de laranja 'Pêra, pelo teste F coincidência das retas.

Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	*	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	**	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	*	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15, fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo

Tabela 2: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de *Pratylenchus jaehni*, nas raízes de plantas de laranja 'Pêra, pelo teste T paralelismo das retas.

Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15, fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo

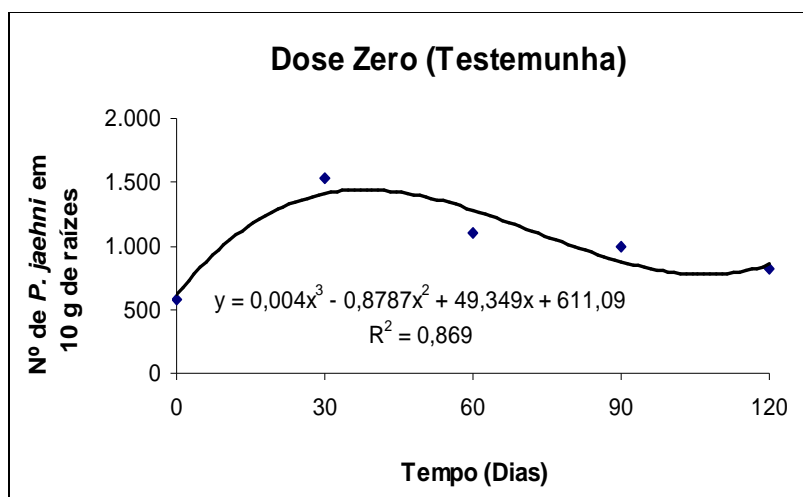
Tabela 3: Comparação dos tratamentos pelo teste do paralelismo e coincidência das retas na avaliação de espécimes de *Pratylenchus jaehni* no solo, de plantas de laranja 'Pêra', pelos testes F coincidência e T paralelismo das retas.

Tratamentos	Tratamentos									
	0	1	2	4	6	T	A	AO	A + 1	AO + 1
0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
4	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
6	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns
T	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
A	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
AO	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
A + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
AO + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamentos: T= Temik® 150G; A = Agrolmin AH; AO = AO-15, fertilizante orgânico; A + 1 = Agrolmin AH + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; AO + 1 = AO-15 + 1 L da formulação dos fungos nematófagos; ns = não-significativo

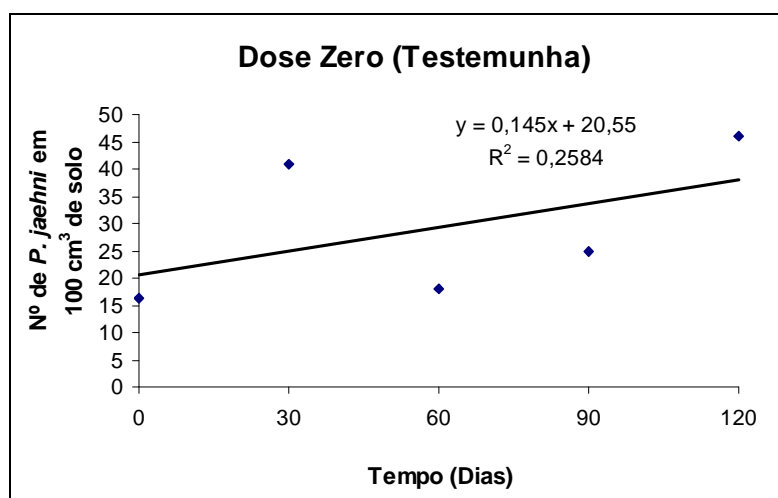
Considerando a flutuação da população de *P. jaehni* nas raízes das plantas de laranja, no tratamento zero (testemunha), conforme ilustrado na Figura 1, observou-se uma flutuação da população do nematóide no período de avaliação, sendo que houve um pico aos 30 dias, coincidindo com o mês de outubro de 2007, e, após esse período, uma queda foi observada na população do nematóide. Isso se deve à coincidência do início do período chuvoso, como demonstrado por CAMPOS (2007). Portanto, se compararmos a população inicial com a final, observa-se acréscimo de 41,5% na população de *P. jaehni* nas raízes das plantas de laranja. Contudo, no solo (Figura 2), a

dinâmica da população teve um comportamento diferente, com aumento de 187% na população final. Entretanto, com períodos de crescimento e de redução da população do nematóide, como foi observado por CAMPOS (2007) em seu estudo da dinâmica da população de *P. jaehni*.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

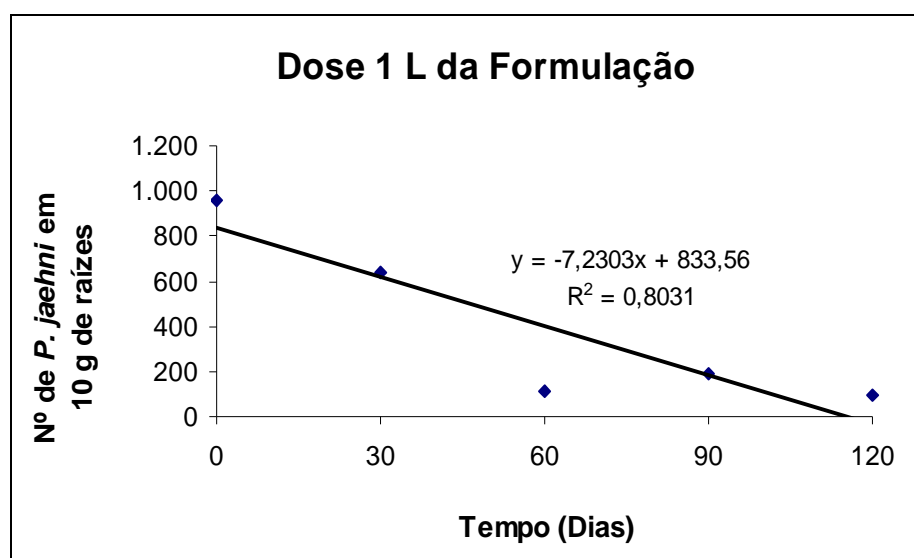
Figura 1: Curva de tendência da população de *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose zero (Testemunha), no período de 120 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide, em pomar comercial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

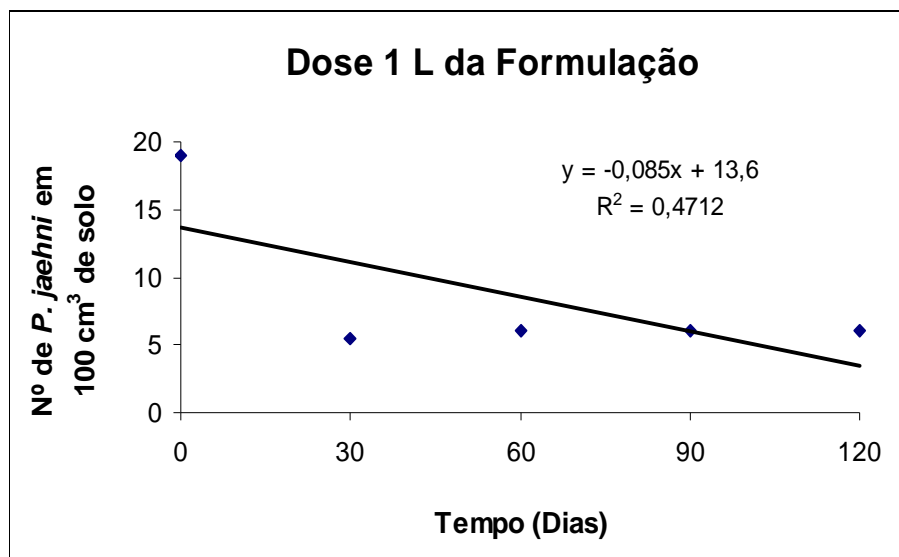
Figura 2: Curva de tendência da população de *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra' na dose zero (Testemunha), no período de 120 dias do estudo da eficácia de fungos nematófagos, no manejo do nematóide, em pomar comercial.

Nas Figuras 3 e 4, são observados ajustes de uma curva de regressão linear negativa na população do nematóide, após a aplicação de 1 L da formulação dos cinco fungos nematófagos: *A. robusta*, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *D. leptospora* e *M. eudermatum*, evidenciando um controle eficiente do nematóide tanto nas raízes como no solo, com redução de 89,8% e 68,4% da população de *P. jaehni*, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por SOARES (2006) em estudo da aplicação de uma formulação dos fungos nematófagos: *A. musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, no controle de *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus brachyurus* e *P. zea*, em quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* (L.)), a campo



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

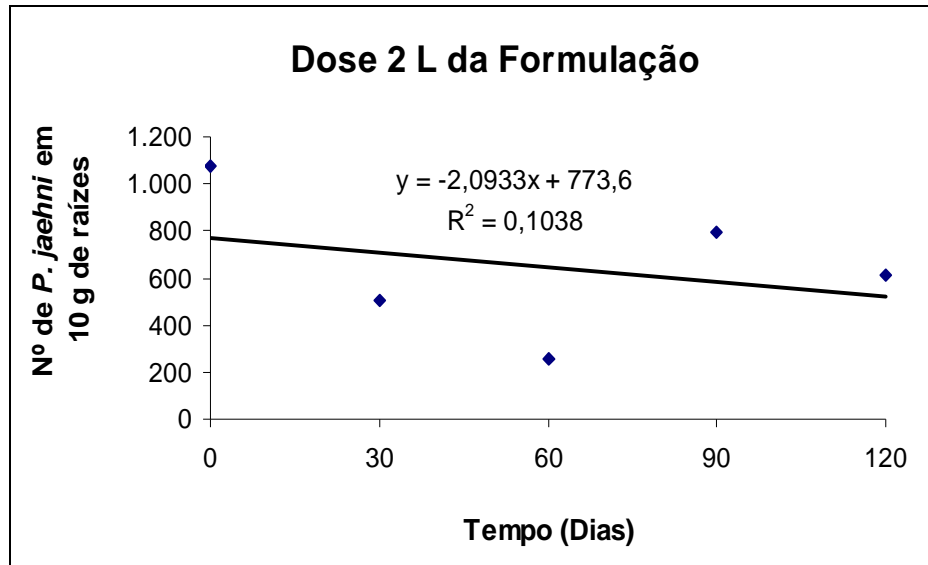
Figura 3: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 1 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

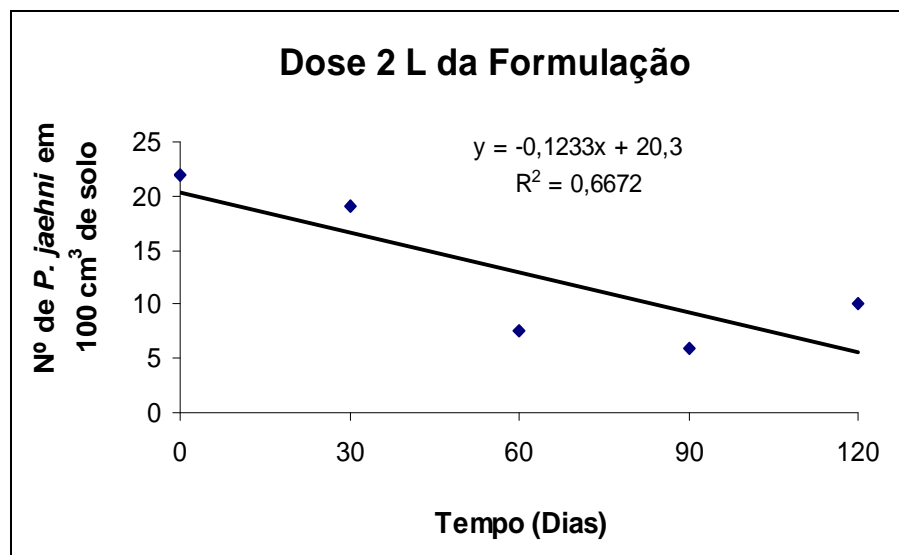
Figura 4: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 1 litro da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.

Nas Figuras 5 e 6, estão ilustradas as curvas de tendência da população de *P. jaehni* para a dose de 2 L da formulação dos fungos, por árvore de laranjeira, no período de 120 dias após a aplicação. Modelos lineares negativos ajustaram-se aos dados, tanto para a população do nematóide nas raízes quanto no solo, em função do tempo. No período, foram observadas reduções de 43 e 55% da população do nematóide nas raízes e no solo, respectivamente. SOARES (2006) obteve o controle de *Meloidogyne* spp., *P. brachyurus*, *P. zea*, *Helicotylenchus* sp. e *Rotylenchulus reniformis*, nas culturas de quiabo, alface (*Lactuca sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.), com uma redução de cerca de 90 a 99% da população desses patógenos, no decorrer do período de 120 dias após a aplicação a campo.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

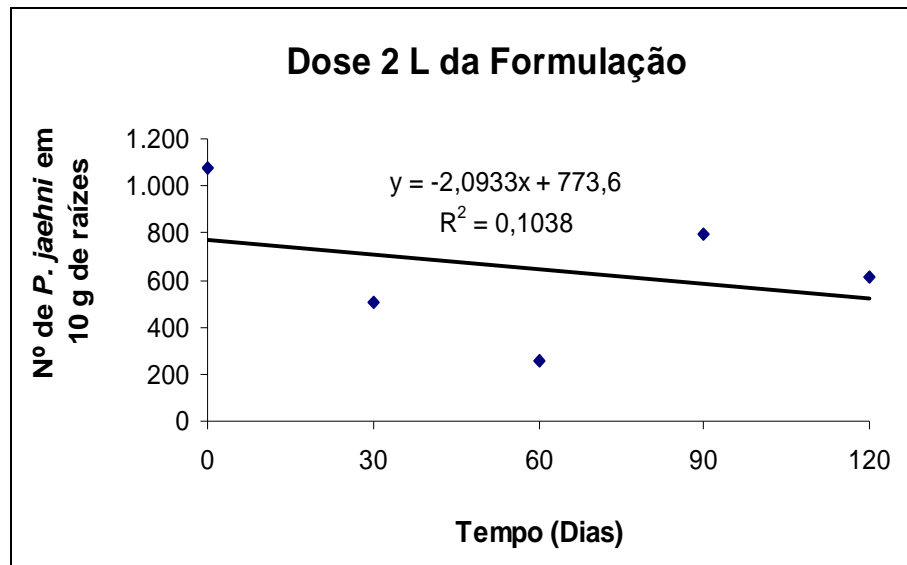
Figura 5: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 2 litros da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

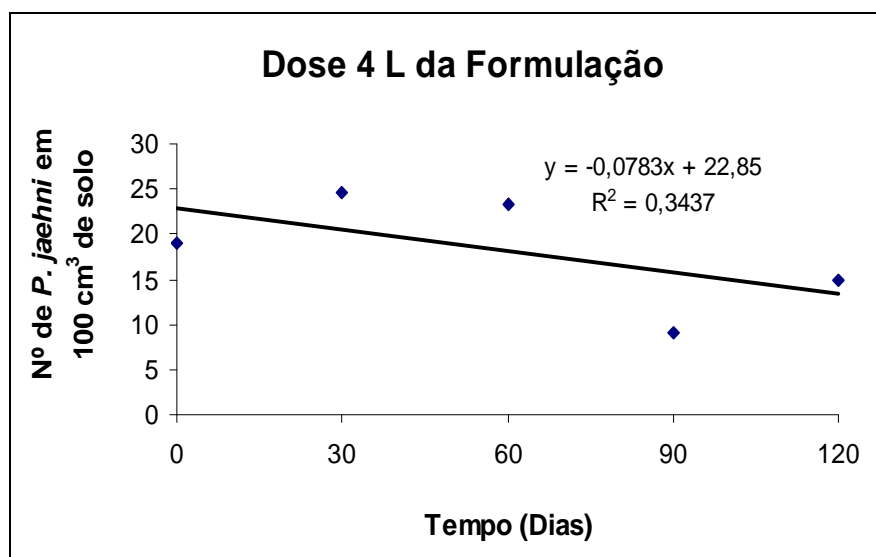
Figura 6: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 2 litros da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.

A dose de 4 L (Figuras 7 e 8) resultou em controle de 59% dos nematóides nas raízes e 21% no solo, com curvas de ajustes lineares decrescentes para essa dose. Na dose de 6 L da formulação dos fungos nematófagos/planta (Figura 9), observou-se a mesma tendência linear de redução da população de nematóides, sendo que, nas raízes, ao final, foi cerca de 63% menor. Entretanto, na Figura 10, relativa à dose de 6 L da formulação dos fungos/planta, aplicados no solo, foi observado aumento na população do nematóide, aos 120 dias após a aplicação. Esse fato poderia ser atribuído à alta variabilidade da distribuição espacial do nematóide (BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002; SOARES, 2006). Outra hipótese sugere que, em doses mais altas, aplicadas a solos com baixo teor de matéria orgânica, os fungos exercem o controle inicial e, por falta de substrato para sua manutenção, exaure-se. Enquanto isso, a planta produz mais radículas, que dão suporte ao crescimento rápido da população remanescente do nematóide. Os resultados obtidos neste experimento contrapõem-se, em parte, aos obtidos por SOARES (2006). Ele observou que o aumento da dose da formulação dos fungos nematófagos estava associado ao aumento da eficiência de controle para olerícolas e ornamentais. Entretanto, no presente estudo, os dados indicaram que as doses de 1 e 2 L da formulação dos fungos por planta foram mais eficientes na redução da população de *P. jaehni* que as doses de 4 e 6 L. CORBANI (2002), em estudo envolvendo o controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* em citros com fungos nematófagos, formulados em quirera de arroz, demonstrou que a melhor dose foi a de 1kg/planta da formulação. Há que se considerar, no entanto, que o tipo de cultura, o hábito de parasitismo do nematóide, a espécie do nematóide em estudo, a época de aplicação e a ocorrência de veranicos no decorrer das avaliações também podem influenciar nos resultados. Nos citros, por tratar-se de uma cultura perene, o manejo é mais complexo, pois o efetivo benefício do controle biológico, nesse caso, irá requerer o conhecimento do período mínimo entre as aplicações (REDDY et al., 1996a; OSMAN & SALEM, 1995) e, de preferência, enfoca-se a transformação de um solo condutivo em supressivo. No caso particular das culturas perenes, esse é o alvo.



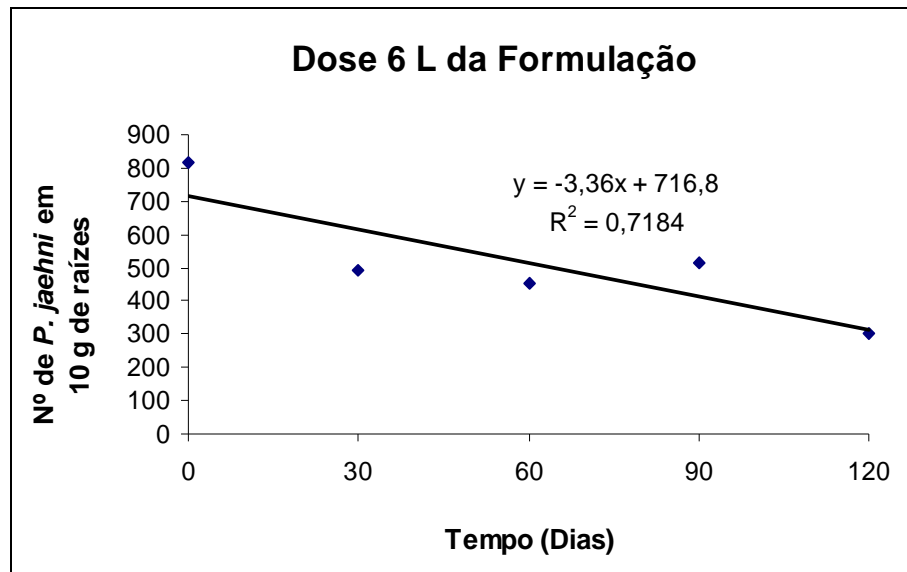
Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 7: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



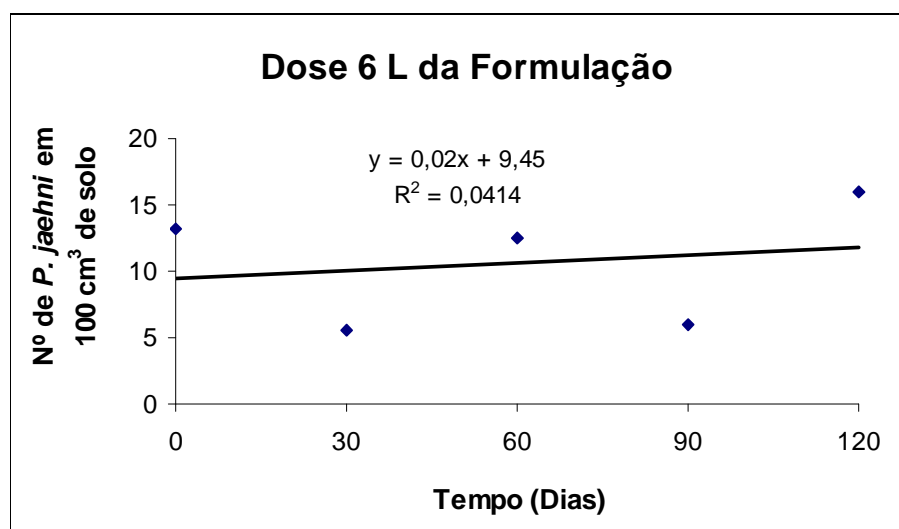
Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 8: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 4 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 9: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.

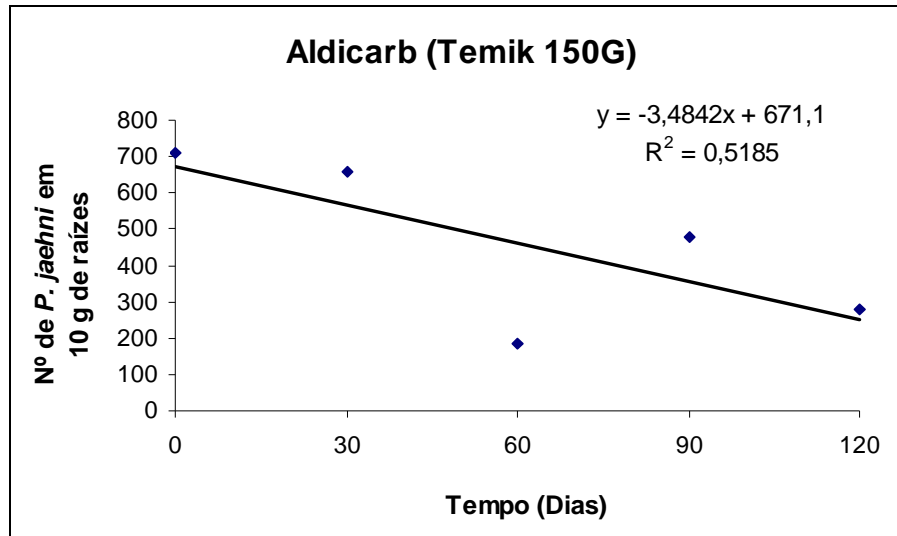


Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 10: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', na dose de 6 L da formulação de cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo da eficácia de manejo do nematóide, em pomar comercial.

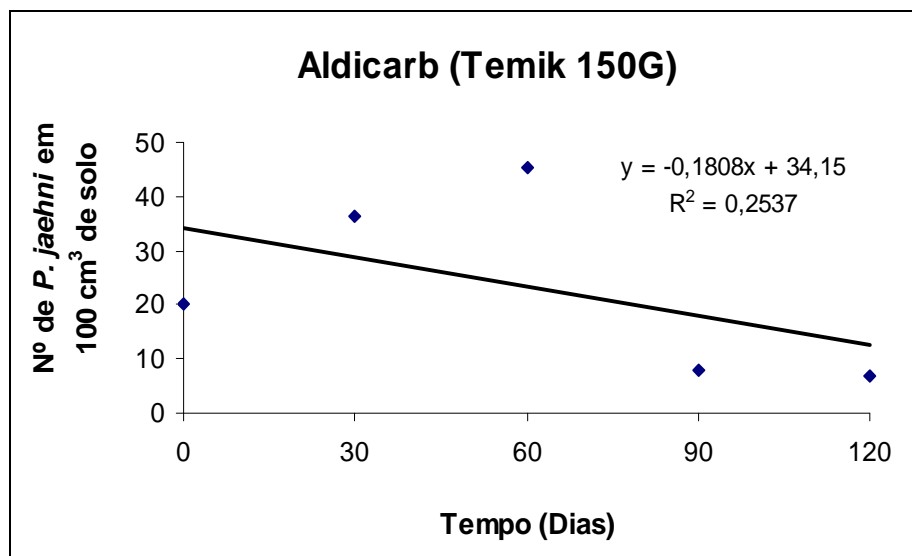
Ao comparar os dados da aplicação da formulação dos fungos com o da aplicação de aldicarb nas raízes, observa-se a mesma tendência linear de controle. Contudo, aldicarb reduziu apenas 61% dos nematóides nas raízes e 65% no solo (Figuras 11 e 12), enquanto a formulação propiciou reduções na população do nematóide, de 90 e 68%, respectivamente, nas raízes e no solo. CAMPOS (2007), estudando a eficiência do controle químico dos nematóides dos citros com aldicarb, não encontrou eficiência satisfatória no controle de *P. jaehni*. Entretanto, os dados obtidos indicaram que a época em que o tratamento foi efetuado, não foi a mais indicada, em função da dinâmica da população do nematóide nos pomares. Entretanto, NOVARETTI et al. (1997) e VERDEJO-LUCAS & MCKENRY (2004) mencionaram que a eficiência do controle químico dos nematóides dos citros torna-se mais evidente apenas depois da segunda aplicação dos nematicidas.

A eficácia da predação de *P. jaehni in vitro* por fungos nematófagos já havia sido demonstrada por MARTINELLI & SANTOS (2007b e c), embasando a hipótese de que o controle biológico do nematóide pode ser viável. Com efeito, além dos produtos químicos existentes no mercado, em todo o mundo, REDDY et al. (1991) e REDDY et al. (1996a e b) 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 nematóides dos citros. Outros estudos de controle biológico realizados no Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV já demonstraram a viabilidade de uso desses agentes para o controle de nematóides em diversas culturas (MAIA, 2000; CORBANI, 2002; BERNARDO, 2002; SOARES, 2006; MARTINELLI & SANTOS, 2007).



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

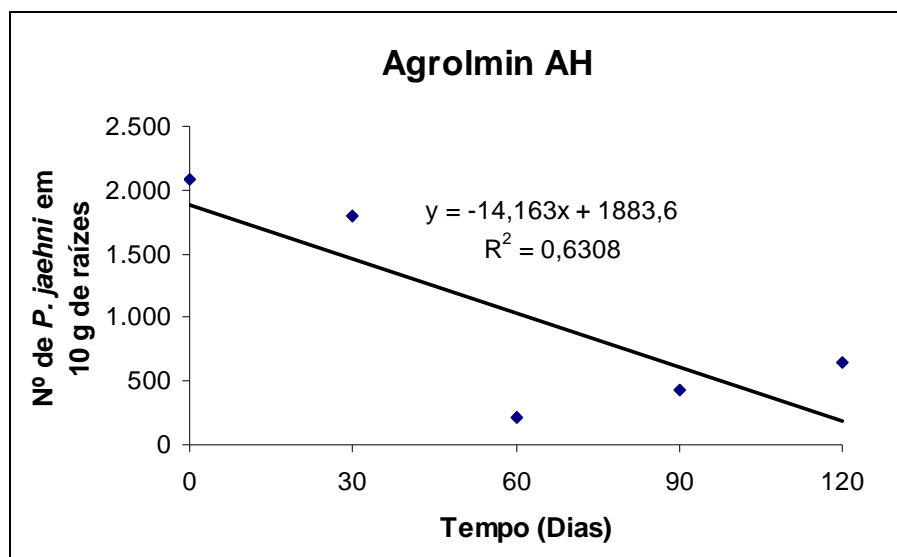
Figura 11: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Aldicarb (Temik® 150G), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

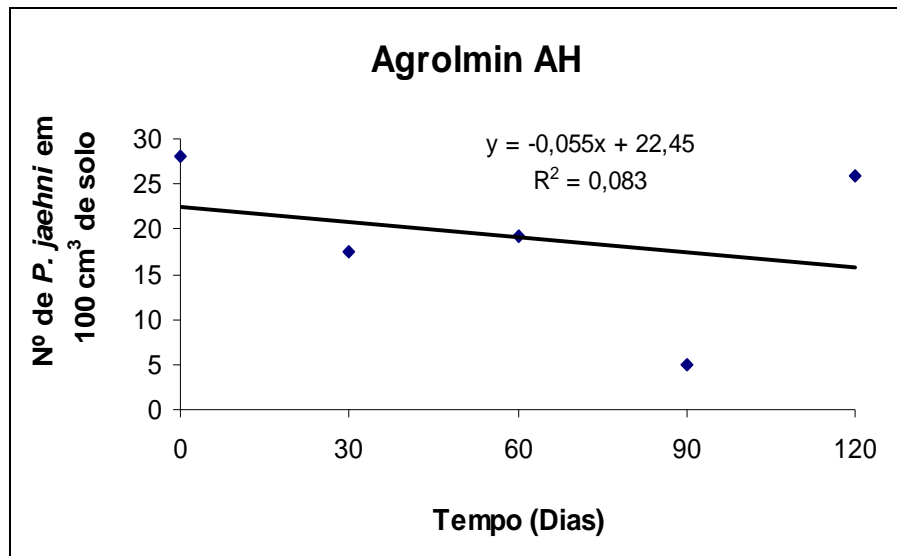
Figura 12: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Aldicarb (Temik® 150G), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 13 e 14 são relativas ao efeito do tratamento do solo da rizosfera de laranjeiras, em pomares infestados por *P. jaehni* com Agrolmin AH, produto à base de ácidos fúlvicos e húmicos, com uma única dose de 4 L/planta. A maior percentagem de redução foi da ordem de 69% obtida nas raízes (Figura 13). No solo, houve redução da população do nematóide nos primeiros 60 dias após a aplicação, com tendência para recomposição da população do nematóide ao final do período de avaliação, de modo que a população final foi apenas 7% mais baixa que a inicial (Figura 14).



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 13: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

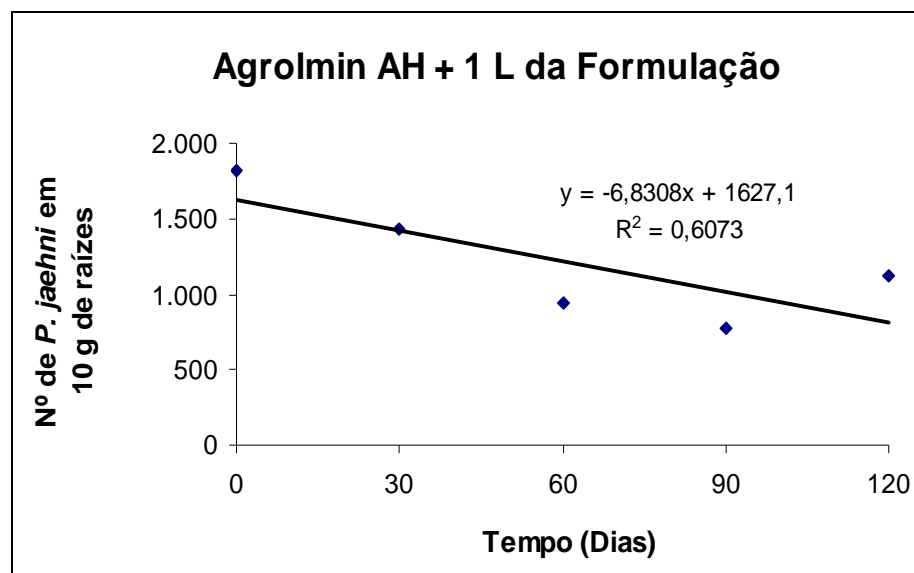


Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 14: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Agrolmin AH (ácidos húmicos e fúlvicos), no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

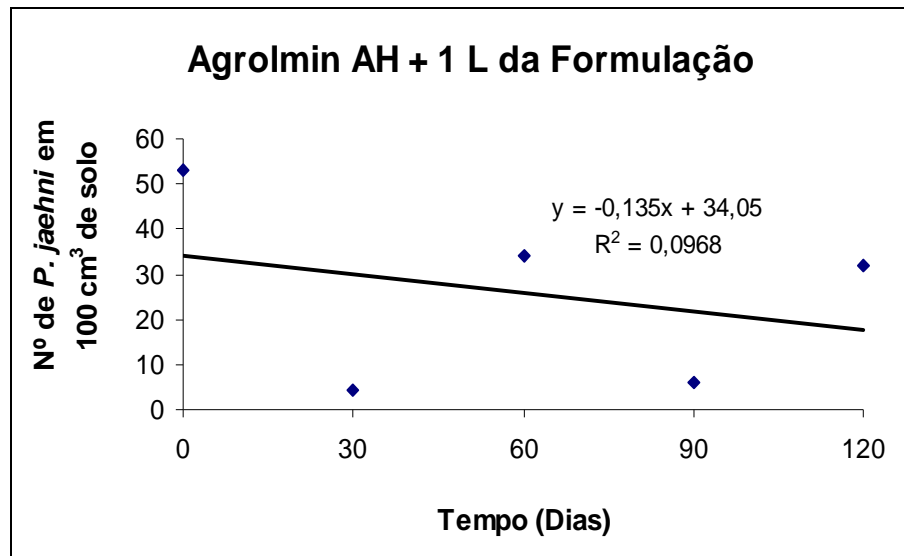
Nos tratamentos com Agrolmin AH, associado com a formulação dos fungos nematófagos na dose de 1 L por planta (Figuras 15 e 16), notou-se redução linear na população de *P. jaehni* nas raízes, com diferença entre a população inicial e a final da ordem de 38% (Figura 15). No solo, os resultados foram inconclusivos. Mesmo assim, houve uma alternância de altos e baixos níveis de populações nas diferentes avaliações, de modo que, ao final, a população do nematóide foi 40% menor que a inicial (Figura 16). Essa variação dos dados foi atribuída à distribuição horizontal do nematóide, conforme comentado por SOARES (2006). Entretanto, sendo o Agrolmin AH um produto à base de ácidos fúlvicos e húmicos, há que se considerar a possibilidade de que esse produto exerça alguma ação desfavorável ao crescimento de bactérias. Entre essas, as rizobactérias, nos últimos anos, vêm sendo estudadas, também, como agentes do controle biológico de nematóides (BENNET & LYNCH, 1981; FABRY et al., 2007). Além das rizobactérias, que poderiam inibir, diretamente, o aumento da população dos nematóides, há outros grupos desses organismos que auxiliam na agressividade de fungos nematófagos. São as chamadas bactérias auxiliadoras ("helper

bactérias”). Quando presentes, tornam os isolados de fungos nematófagos mais agressivos (DUPONNOIS et al., 1998). Qualquer tratamento do solo que iniba um ou outro desses grupos de bactérias, favoreceria o aumento da população dos nematóides. Sendo o Agrolmin AH um produto rico em ácidos orgânicos, há a possibilidade de a acidificação da rizosfera inibir assim esses grupos de bactérias com favorecimento da população dos nematóides.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

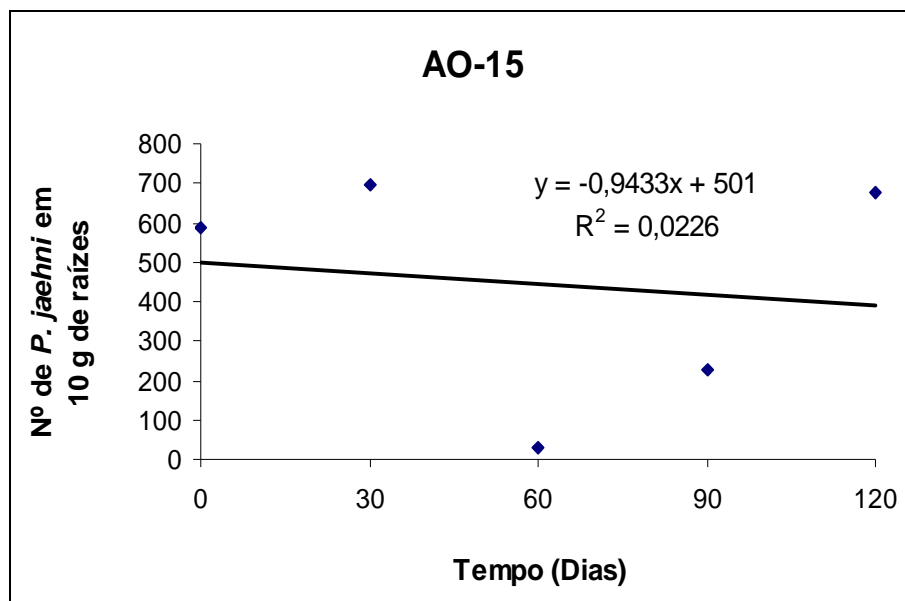
Figura 15: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

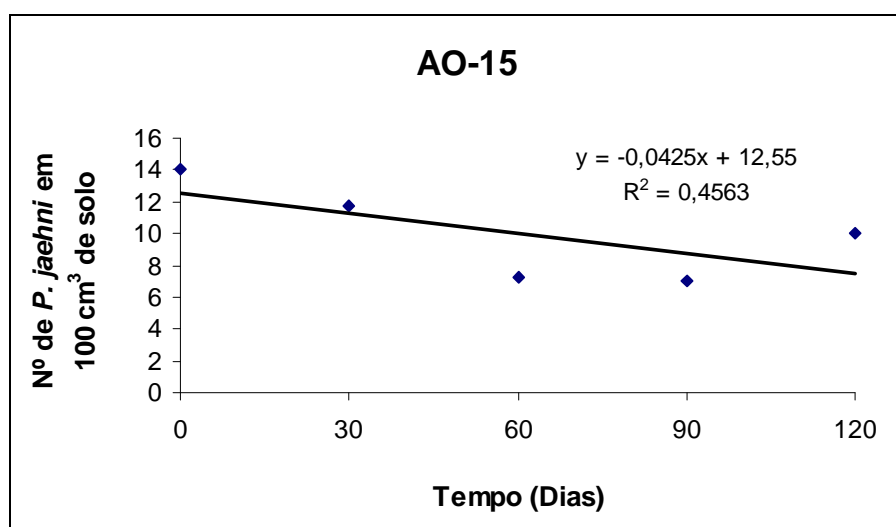
Figura 16: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja ‘Pêra’, no tratamento com Agrolmin AH + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 17 e 18 são pertinentes às curvas de tendência da população do nematóide no período estudado e ilustram o efeito do tratamento com o fertilizante orgânico AO-15, contendo 8% de carbono orgânico, 15% de fosfato natural e 8% de cálcio, aplicado na dose de 200 g/planta. Na Figura 17, está representada a curva de tendência da população de *P. jaehni* nas raízes das plantas, ocorrendo uma redução da ordem de 94% na população do nematóide até o período de 60 dias após a aplicação. Após esse período a população do nematóide voltou a crescer, de modo que, ao final do período avaliado, estava 15% mais alta que a população inicial. Contudo, a avaliação da dinâmica da população do nematóide no solo, em resposta à aplicação do produto (Figura 18), revelou uma queda linear da população do nematóide no decorrer das avaliações. Entretanto, a população final foi somente 28% menor que a inicial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

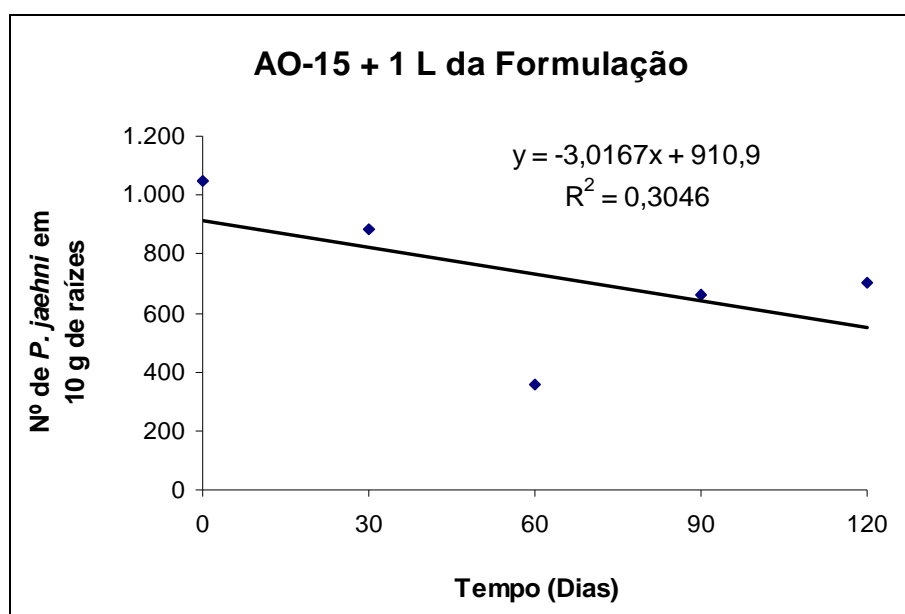
Figura 17: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

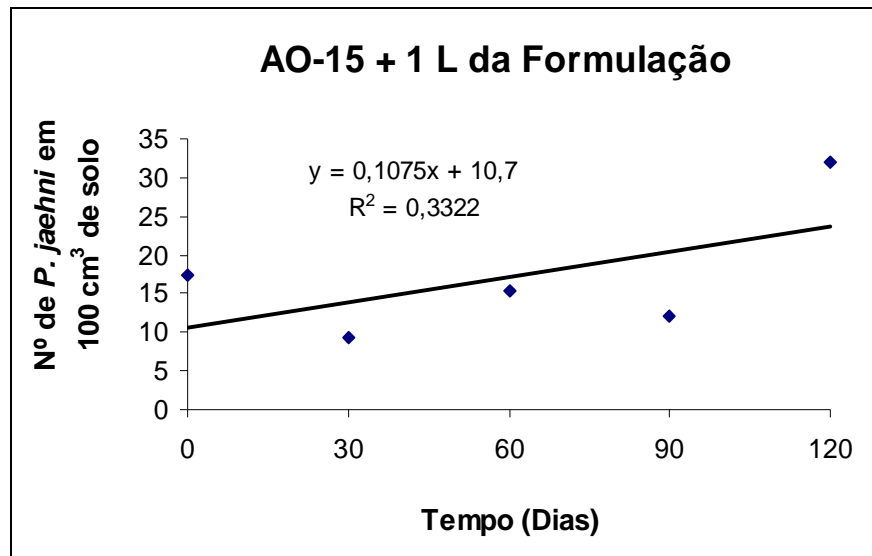
Figura 18: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial.

As Figuras 19 e 20 são relativas às curvas de tendência da população de *P. jaehni* nas raízes e no solo, com o tratamento AO-15 acrescido de 1 L da formulação dos fungos nematófagos. Nas raízes, a redução na população do nematóide foi linear, com queda de 32% no período avaliado (Figura 19), enquanto, no solo, ocorreu aumento de 88% da população (Figura 20). Nesse caso, é possível que o produto tenha induzido os nematóides a migrarem das raízes para o solo, por alguma ação de repelência do produto, fazendo com que a população no solo tenha experimentado expressivo aumento (Figura 20).



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 19: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* nas raízes de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial



Curva de regressão ajustada a 5% de probabilidade.

Figura 20: Curva de tendência da população de espécimes *Pratylenchus jaehni* na rizosfera de plantas de laranja 'Pêra', no tratamento com fertilizante orgânico AO-15 + 1 L da formulação com cinco fungos nematófagos, no período de 120 dias do estudo de manejo do nematóide, em pomar comercial

CONCLUSÕES

Os dados obtidos dão suporte às seguintes conclusões:

1. As doses de 1 e 2 L da formulação dos fungos nematófagos foram mais eficazes que doses mais altas, superando o tratamento do solo com aldicarb para o controle de *P. jaehni*, tanto no solo quanto nas raízes de citros; entretanto, não diferiram estatisticamente entre si, em nenhum dos tratamentos nem da testemunha.
2. A aplicação da formulação dos fungos nematófagos em mistura com Agrolmin AH ou com o adubo orgânico AO-15 não aumentou a eficiência do tratamento com os fungos nematófagos para o manejo biológico de *P. jaehni* em citros.

3. Os dados obtidos confirmam que a formulação de cinco fungos nematófagos empregada no estudo é eficaz para o controle biológico de *P. jaehni* em citros, porém não diferiram estatisticamente entre si nem da testemunha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECARO, C. K. ; SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; GONZAGA, V.; Santos, J. M. dos . Patogenicidade de *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* a *Pratylenchus jaehni* in vitro. In: XXV Congresso Brasileiro de Nematologia, 25, 2005, Piracicaba. **Resumos..** Piracicaba: SBN, 2005. p. 117-117.

BECARO, C. K.; GIMENES, R.; SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F. ; GONZAGA, V.; Santos, J. M. dos . Avaliação da patogenicidade de *Dactylella* sp. ao nematóide das lesões radiculares dos citros (*Pratylenchus jaehni*). In: XXVI Congresso Brasileiro de Nematologia, 26, 2006. Campos dos Goytacazes. **Resumos...** Campos dos Goytacazes: SBN, 2006. p. 59-59.

BENNETT, R. A.; LYNCH, J. M. Colonization potential of bacteria in the rhizosphere. **Current Microbiology**, New York, v.6, p. 137-138, 1981.

BERNARDO, E. R. A. **Eficácia do controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira, 1940) em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) com fungos nematófagos.** 2002. 74 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) - Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2002.

CALZAVARA, S. A. **Descrição dos sintomas de laranjeiras infectadas por *Pratylenchus jaehni*, resistência de porta-enxertos, estudo da faixa de hospedeiros e desenvolvimento de plantas jovens inoculadas com o nematóide em microparcelas.** 2007, 55 f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração

Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

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.** 2007, 52 f. 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.** 2002. 44 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado e 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 extration of nematodes from plant tissue. **Gent: State Agricultural Reserch Center**, 1972. 77p.

DUNCAN, L. W. Nematode parasites of citrus. In: LUC, M; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**, 2^a ed. Wallingford: CAB International, 2005. 871p.

DUPONNOIS, R.; AMADOU, M. B.; MATEILLE, T. Effects of some rhizospher_bacteria for the biocontrol of nematodes of the genus *Meloidogyne* with *Arthrobotrys oligospora*. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 2, p. 157-163, 1998.

FABRY, C. F. S.; FREITAS, L. G.; NEVES, W. S.; COUTINHO, M. M.; TÓTOLA, M. R.; OLIVEIRA, J. R. de; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S. Obtenção de bactérias para o biocontrole de *Meloidogyne javanica* por meio de aquecimento de solo e tratamento com filtrado de raízes de plantas antagonistas a fitonematóides. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 32-35, 2007.

INSERRA, R. N.; DUNCAN, L. W.; TROCCOLI, A.; DUNN, D.; SANTOS, J. M. dos; KAPLAN, D.; VOVLAS, N. *Pratylenchus jaehni* sp. 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.

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

MAIA, A. S. **Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines***. 2000. 117 f. Tese (Doutorado Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

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, 2007c. p.53.

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.

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.; 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.; 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 Ecosystems**, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 61-63, 1996b.

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, 2006. p. 607-628.

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, 2005a. p. 67.

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* e na produção comercial de pimentão em ambiente protegido. In: CONGRESSO

BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba, **Resumos...** Piracicaba: SBN, 2005b. p. 68.

SOARES. P. L. M. **Estudos do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos.** 217 f. Tese de Doutorado (Doutorado e Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola) – Departamento de Fitossanidade, UNESP/FCAV, Jaboticabal, 2006.

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

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.