



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARINA CAPPARELLI CADIOLI

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Paecilomyces lilacinus* PARA
CONTROLE INTEGRADO DE *Meloidogyne paranaensis* EM
CAFEIEIRO**

Londrina
2007

MARINA CAPPARELLI CADIOLI

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Paecilomyces lilacinus* PARA
CONTROLE INTEGRADO DE *Meloidogyne paranaensis* EM
CAFEEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial á obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Santiago

Londrina
2007

Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C124s Cadioli, Marina Capparelli.
Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* para controle integrado de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro / Marina Capparelli Cadioli. – Londrina, 2007.
40f. : il.

Orientador: Débora Cristina Santiago.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2007.

Inclui bibliografia.

1. Café – Doenças e pragas – Controle biológico – Teses. 2. Nematoda em plantas – Teses. 3. Meloidogyne – Teses. I. Santiago, Débora Cristina. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 632.651

MARINA CAPPARELLI CADIOLI

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Paecilomyces lilacinus* PARA
CONTROLE INTEGRADO DE *Meloidogyne paranaensis* EM
CAFEEIRO**

BANCA EXAMINADORA

Pesq. Dra. Alaíde Aparecida Krzyzanowski
IAPAR

Prof. Dr. Martin Homechin
UEL

Prof. Dr. Pedro Manuel de Oliveira Janeiro Neves
UEL

Pesq. Dr. Rui Gomes Carneiro
IAPAR

Profa. Dra. Débora Cristina Santiago
Orientadora
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 26 de fevereiro de 2007.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Roberto e Ana pelo exemplo de amor, dedicação e pelos ensinamentos para viver com dignidade e sabedoria. À minha irmã Isabela e ao meu namorado Marcelo pela paciência, amor e conselhos que me ajudaram a superar este desafio com equilíbrio. Aos meus avós, Agile e Therezinha pelos ensinamentos de vida e aos meus familiares e amigos que me incentivaram em mais esta etapa de minha vida.

Aos meus avós Marina e Waldemar “in memoriam”, com muita saudade e orgulho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pois foi Nele que encontrei forças para continuar seguindo meu caminho.

À minha orientadora Professora Doutora Débora Cristina Santiago não só pela constante orientação neste trabalho que foi fundamental para o meu aprimoramento profissional, mas sobretudo pela sua amizade que foi e será muito importante para o meu crescimento pessoal.

Ao Professor Doutor Martin Homechin, ao Professor Doutor Pedro Manuel de Oliveira Janeiro Neves e à Pesquisadora Doutora Alaíde Aparecida Krzyzanowsk pela presteza e dicas fundamentais para o aprimoramento deste trabalho.

Aos colegas de pós graduação Marcelo Balan, Lucimara Koga, Vanesca Korasaki, Silvia Hulse, Marcela Moritz, Cristiane Moreno, Viviane Marçal, Luciana Meneguim, Michele Lopes da Siva, Marceli Hikishima, Neucimara Ribeiro, Tatiane Dala Nora e Levy que me ajudaram e me incentivaram nesta etapa de minha vida.

Aos graduandos em agronomia e amigos do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina Arian, Vanessa dos Santos Paes, Adriano Thibes Hoshino, Vinadio, Giovane de Oliveira Arieira, Fernando César Baida, Roger, André, Cristiane, Alexandre Takahashi, Amália Ferreira Pintar, Dhenisson Leandro Fidelis, Patrícia Adriana Mattiello e Thiago Mitugui Bruschi de Menezes pela ajuda e amizade.

Ao técnico do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina, José Aparecido Rocha, pela amizade e ensinamentos passados nesta fase de minha vida.

Ao Jefferson Costa Hernandez, da Secretaria Municipal de Agricultura e Abastecimento da cidade de Londrina, pela enorme ajuda e apoio durante o trabalho.

Ao Pesquisador Doutor Rui Gomes Carneiro do Instituto Agrônômico do Paraná que contribuiu para que este trabalho pudesse ser concluído.

Aos Professores do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina pelo privilégio do convívio amigo e ensinamentos.

Aos meus pais, Ana e Roberto Cadioli que me deram forças e me incentivaram sempre com muito amor e compreensão.

Aos meus avós Agile Cadioli e Therezinha Capparelli que mesmo com a distância me incentivaram em pensamento, pela garra e coragem para viver uma vida digna.

À minha irmã Isabela Cadioli Weffort e meu cunhado Fernando Weffort pelo carinho, dedicação e paciência em todos os momentos de mais esta estapa de minha vida.

Ao meu namorado Marcelo Cabrera, pela enorme paciência, dedicação, incentivo, ótimos momentos e, principalmente, apoio nos momentos mais difíceis sempre me confortando e fortalecendo.

Às minhas amigas Thaíse Nagafuchi e Lucimara Koga, pela paciência, dedicação, compreensão, tolerância e carinho que me ajudou a superar mais este desafio.

Aos meus familiares e amigos que me apoiaram e sempre me confortaram com palavras doces de incentivo para que eu atingisse a minha meta.

Cadioli, M. C. **Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* para controle integrado de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro.** 2007. 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

RESUMO

Os fitonematóides são responsáveis pela redução de 20% da produção nos cafeeiros, sendo 15% em função das espécies de *Meloidogyne*. *Paecilomyces lilacinus* é uma espécie fúngica utilizada no controle biológico de nematóides, sendo uma das mais estudadas a campo. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar 10 isolados de *P. lilacinus*, obtidos na região de Londrina-PR, quanto a sua eficiência no controle de *M. paranaensis*, em dois experimentos conduzidos em casa-de-vegetação. Para tanto foram selecionados dez isolados de *P. lilacinus*, os quais foram multiplicados em grãos de arroz parboilizados. O primeiro experimento foi realizado após ter sido obtido o inóculo de *Meloidogyne paranaensis* em plântulas de tomateiro cv. Santa Cruz durante quarenta e cinco dias. Na seqüência, efetuou-se o transplântio de uma muda do cafeeiro cv. Icatú, por saquinho, e a este inoculou-se isolados de *P. lilacinus* através da adição e mistura de 50 g de arroz colonizado (10^9 esporos do fungo.g⁻¹ de arroz) ao mesmo substrato utilizado para multiplicação do inóculo em mudas de tomate. Em seguida, as mudas foram inoculadas com suspensão contendo ± 5000 ovos e eventuais juvenis de *M. paranaensis*. E após 15 dias procedeu-se mais uma aplicação por cobertura de 50g dos isolados. No segundo experimento, mudas de cafeeiro cv. Icatú foram transplantadas diretamente para sacos de polietileno juntamente com os isolados de *P. lilacinus* através da adição e mistura de 50 g de arroz colonizado (10^9 esporos do fungo.g⁻¹ de arroz). Em seguida, as mudas foram inoculadas com suspensão contendo ± 5000 ovos e eventuais juvenis de *M. paranaensis*. Aos 15 dias do transplântio das mudas de cafeeiro efetuou-se nova aplicação em cobertura dos tratamentos as plantas de cafeeiro cv. Icatú. Nos dois experimentos o delineamento foi inteiramente casualizado com doze tratamentos (dez isolados + uma testemunha inoculada com *M. paranaensis* e uma testemunha não inoculada com *M. paranaensis*). Aos 90 dias da primeira inoculação do fungo, foram avaliadas características referentes ao desenvolvimento das plantas e quanto a eficiência destes na capacidade reprodutiva de *M. paranaensis* nos dois experimentos. Os isolados de *P. lilacinus* que reuniram as características mais desejáveis para o combate ao *M. paranaensis*, no primeiro experimento, foram Pae 03, 12 e 20; e no segundo experimento, foram os isolados Pae 13, 18 e 22.

Palavras-chave: Controle biológico. Nematóide de Galha. Fungo endoparasita. Parasitismo. Supressividade

Cadioli, M. C. **Selection of isolated of *Paecilomyces lilacinus* for the integrated control of *Meloidogyne paranaensis* in coffee.** 2007. 48f. Dissertation (Master Degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

ABSTRACT

Phytonematodes are responsible for 20% reduction of the coffee production, being 15% caused by the species of *Meloidogyne*. *Paecilomyces lilacinus* is a fungi species used in the biological control of nematodes. This, work had as an objective to evaluate 10 isolated of *P. lilacinus*, gotten in the region of Londrina, PR, and observed its efficiency in the control of *M. paranaensis*, in two experiments lead in greenhouse. Ten isolated of *P. lilacinus* were selected from those experiments, and multiplied in parboilized grains of rice. The first experiment was set after to have been gotten inoculums of *Meloidogyne paranaensis* in seedling of tomato cv. Santa Cruz incubated during forty-five days. Seedling of coffee cv. Icatú, after transplanted to a small plastic bag, was inoculated by an isolated of *P. lilacinus* through the 50g of colonized rice (10^9 spores of fungi.g⁻¹ of rice) following that the same substrate was inoculated by a suspension of ± 5000 *M. paranaensis* eggs and some youthful. And after 15 days was proceeded to another application for covering from 50g from the isolated of *P. lilacinus*. In the second experiment, seedlings of coffee tree cv. Icatú had been transplanted directly to plastics bags and inoculated by an isolated of *P. lilacinus* through the 50g of colonized rice (10^9 spores of fungi.g⁻¹ of rice) following that the same substrate was inoculated by a suspension of ± 5000 *M. paranaensis* eggs and some youthful. And after 15 days was proceeded to another application for covering from 50g from the isolated of *P. lilacinus*. In the two experiments the delineation was entirely at random with twelve treatments (ten isolated ones, plus a control inoculated with *M. paranaensis* and a control without *M. paranaensis*). To the 90 days of the first inoculation of fungi, they had been evaluated characteristics referring to the development of the plants and how much the efficiency of these in the reproductive capacity of *M. paranaensis* in the two experiments. The isolated ones that they had congregated the desirable characteristics for the control of *M. paranaensis*, in the first experiment, had been the isolates of *P. lilacinus* Pae 03, 12 and 20; e in the second experiment, had been the isolated Pae 13, 18 and 22.

Keywords: Biological control. Root-knot Nematode Parasite fungus, Parasitism, Suppression.

1 INTRODUÇÃO

No início do século XX, o café produzido no Brasil chegou a representar cerca de 80% de todo café consumido no mundo, porém, nos últimos quarenta anos, a cafeicultura brasileira vem perdendo importância em relação a outros setores da economia nacional (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO CAFÉ, 2002). Em 2002 a participação brasileira no mercado externo representava 28,3% e mesmo assim, o país continua sendo o principal produtor e exportador de café, apresentando uma taxa de crescimento anual de 2,53%, no período de 1989 a 2002, possuindo relevante papel na economia nacional (FAO, 2004).

A cafeicultura é considerada uma atividade importante na região Norte do Paraná, economicamente e socialmente. Nessa cultura, dentre os parasitos de plantas, os nematóides de galhas em parte são responsáveis por perdas elevadas da produção agrícola e como frequentemente não exibem sintomas claros, os danos decorrentes de sua incidência tendem a serem subestimados pelos produtores. Porém existem cálculos de perdas anuais para a agricultura mundial em cerca de 80 bilhões de dólares (Agris, 1997).

No Brasil, em vista do desconhecimento da importância econômica dos nematóides a quantificação de perdas não é precisa devido principalmente às interações com danos provocados por pragas e outras doenças, condições climáticas, presença de plantas invasoras e inadequação de tratamentos culturais (Ritzinger e Fancelli, 2006).

Os nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) estão amplamente distribuídos em plantações de café brasileiras, causando grandes perdas aos produtores e a economia do país (Caneiro et al., 1996). Também eleva gastos com defensivos, quer seja com nematicidas ou devido ao fato das plantas infestadas apresentarem-se mais suscetíveis a outros patógenos e pragas, o que exige tratamentos adicionais com fungicidas, bactericidas, inseticidas, acaricidas e outros, onerando o cultivo. Também leva o agricultor a adotar outras medidas para controle como: a rotação de culturas com plantas menos remuneradoras, muitas vezes anti-econômicas. Os nematóides, portanto, limitam o uso do solo reduzindo a produtividade (Pimentel, 1991).

Essa situação evidencia cada vez mais a necessidade do desenvolvimento de metodologias e técnicas a exemplo do controle biológico, para serem utilizadas em integração com outras medidas para controle, buscando não a erradicação do parasita, mas sim a manutenção da população a um nível de equilíbrio dentro da biocenose do solo. Este processo

similarmente ao que ocorre na natureza, não tem efeitos negativos como o controle químico (Pimentel, 1991).

Para diminuir as perdas das lavouras de café e reduzir para níveis mínimos os danos causados ao ambiente com a utilização de produtos químicos, o emprego do fungo *Paecilomyces lilacinus* na forma de produto biológico constitui-se em uma alternativa, podendo melhorar a produção, oferecer ao consumidor produto com melhor qualidade e resgatar o equilíbrio populacional de nematóides nos moldes existentes do ecossistema natural.

Paecilomyces lilacinus (Thom.) Samson é uma das espécies fúngicas com maior número de avaliações em condições de campo e com potencial para uso prático no controle biológico dos fitonematóides, atuando como parasita de ovos (Kerry, 1990). Ele se caracteriza por atacar as massas de ovos e exerce forte pressão na capacidade reprodutiva, antes do início do ciclo reprodutivo do nematóide (Dunn et al., 1982).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo selecionar isolados de *P. lilacinus* quanto a sua eficiência no controle de *M. paranaensis*. Esses conhecimentos são importantes para que seja possível viabilizar a cafeicultura em áreas infestadas por nematóides, após a redução destas populações com o emprego de *P. lilacinus*, buscando restabelecer o equilíbrio natural no solo e assim diminuir as perdas de produtividade causadas por este parasita.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 GÊNERO *MELOIDOGYNE* GOELDI, 1892 E SEU CONTROLE

O primeiro registro da existência de nematóides foi descrito por Jobert em 1878 em visita ao Brasil, com o objetivo de identificar a causa do declínio dos cafezais da então chamada Província do Rio de Janeiro. Na ocasião ele associou o problema dos cafezais com a presença de numerosos engrossamentos nas raízes das plantas examinadas, alguns com tamanho de uma pequena ervilha. Também observou a presença de ovos e minúsculos vermes associados a essas malformações. Este registro foi concluído por Göeldi, um naturalista suíço, que trabalhava no Museu Nacional do Rio de Janeiro, nos “primeiros dias de novembro de 1887”, embora só tenha sido publicado em novembro de 1892. Göeldi descreveu como causa da moléstia que devastou a cafeicultura do Brasil como sendo um nematóide microscópico e parasito de raízes e o denominou de *Meloidogyne exigua*. Assim, estava criado o “gênero” o qual ainda hoje, em todo o mundo, é tido como o mais prejudicial e importante para as plantas cultivadas.

Pertencente à família Heteroderidae, o gênero *Meloidogyne* Göeldi, 1892 é compreendido pelas espécies designadas como “formadoras de galhas” ou “root-knot nematodes”. Até 1988, o gênero incluía mais de 60 espécies (Eisenback e Triantaphyllou, 1991).

No Brasil, várias espécies têm sido constatadas, dentre elas *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. exigua* Göeldi, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. hapla* Chitwood, *M. coffeicola* Lordello & Zamith, *M. thamesi* Chitwood, *M. lordelloi* da Ponte, *M. bauruensis* Lordello, *M. elegans* da Ponte, e *M. inomata* Lordello, sendo as três primeiras, até então, as mais disseminadas (Ferraz, 1985).

Em culturas de importância econômica como algodão, fumo, batata, tomate, cenoura, soja, cana-de-açúcar, café, frutíferas e muitas outras esses nematóides de galhas chegam a ser fator limitante (Lordello, 1984; Ferraz, 1985). De acordo com Sasser (1979), cerca de 12,3% da produção agrícola mundial são perdidas anualmente em decorrência do ataque dos nematóides, equivalendo a prejuízos de mais de 100 bilhões de dólares.

Meloidogyne incognita, *M. exigua* e *M. coffeicola* têm sido relatados já há vários anos em plantações de café nos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais, em

populações puras ou misturadas, com variações da espécie mais dominante (Campos et al., 1990; Lordello et al., 1974). Levantamento realizado no estado do Paraná mostra um aumento na distribuição da população de *M. incognita* e diminuição da população de *M. coffeicola* (Carneiro e Carneiro, 1982). Acreditando-se que *M. coffeicola* tenha sido erradicado pelas muitas renovações das plantações após terem sido dizimadas no inverno rigoroso de 1975 (Campos et al., 1990).

Em áreas infestadas com as espécies do gênero *Meloidogyne*, o crescimento, translocação de água e nutrientes e a produção do cafeeiro é seriamente comprometida (Arruda, 1960). Uma resposta do cafeeiro à presença de *Meloidogyne* na raiz é a formação de galhas no sistema radicular, resultado da hipertrofia de células do cilindro central ao redor do corpo do nematóide que ali se desenvolve comprimindo os vasos do xilema, reduzindo a absorção e transporte de água e nutrientes. Em consequência deste parasitismo a parte aérea de cafeeiro exibe sintomas de deficiências nutricionais, queda de folhas, ocorrência do bicho mineiro e cercosporiose com altas infestações. O sistema radicular é reduzido e observa-se uma queda na produção. Santos e Triantaphyllou (1992) sugeriram que as populações de *Meloidogyne* spp. no café frequentemente não são identificadas.

Carneiro (1993) relatou uma variação em *M. incognita* em cafeeiro denominando-o “biótipo IAPAR”. Populações deste têm sido encontradas associadas ao cafeeiro no estado do Paraná com ocorrência de aproximadamente 52% de todas as áreas infestadas pelos nematóides de galhas no Paraná. Ele pode ter estado presente nas plantações de café brasileiras por muitos anos e tem sido relatado como “populações não identificadas de *Meloidogyne* spp. no café” (Esbenshade e Triantaphyllou, 1985). Tendo como base diferenças morfológicas e biológicas e comparado a outras espécies de *Meloidogyne* spp., anteriormente descrito como uma nova raça de *M. incognita*, ele foi descrito, ilustrado e designado como *M. paranaensis* n. sp. por Carneiro et. al., 1996.

Para o controle dos fitonematóides medidas como: cultivares resistentes, rotação de culturas e o controle químico são as mais recomendadas. Considerado como o método ideal de controle o emprego de plantas resistentes nem sempre é possível, pois depende de disponibilidade de variedades que combinem características de resistência com qualidades agrônômicas desejáveis. Outra prática recomendada, mas, que por vezes apresenta limitações é a rotação de culturas, em função de que espécies utilizadas, para cultivo em rotação, não permitem o retorno econômico idêntico ao da cultura principal, embora algumas possam ser empregadas como adubo verde (Kerry, 1987).

O controle químico através de nematicidas utilizados como medida preventiva ou para evitar perdas tem sua utilização, por vezes, comprometida devido aos efeitos adversos que causam ao meio ambiente (Thomason, 1987; Noling e Becker, 1994) e à população microbiana, o que os tornam ineficazes (Stirling et al., 1992). Outro fator negativo da sua utilização é a ocorrência de reinfestações periódicas pelo nematóide, situação normalmente observada após o período residual do produto (Jatala, 1986).

A conscientização pública para redução de riscos ou impactos toxicológicos ao meio ambiente e aos consumidores é crescente e, muitas vezes, determina a redução e até a eliminação do uso de determinados defensivos agrícolas. Entretanto, estudos envolvendo outros métodos para o controle de fitonematóides têm sido incrementados e, atualmente, o controle biológico vem sendo considerado como uma das alternativas dentro de uma abordagem integrada, onde se busca assegurar o desenvolvimento sustentável da agricultura. O uso de inimigos naturais é promissor e torna-se um fascinante campo de investigação, potencialmente útil dentro das medidas duráveis (Stirling e West, 1991) e, que pode atuar no sentido de reduzir as populações de fitonematóides para limiares abaixo do nível de dano econômico (Duncan, 1991).

Pela eficiência em relação aos nematóides de galhas, os fungos têm se destacado como os agentes de controle biológico mais estudados, especialmente aqueles parasitas de ovos. A habilidade dos fungos nematófagos em colonizar a rizosfera tem sido apontada como uma característica importante de um agente de biocontrole (Maia et al, 2001). Dentre esses fungos, as espécies *Paecilomyces lilacinus*, *Verticillium chlamydosporium* Goddard e *Dactylella oviparasitica* Graham & Mankau têm sido as mais estudadas (Kerry, 1990), no entanto *P. lilacinus* vem sendo mais empregado em condições de campo.

2.2 PAECILOMYCES LILACINUS (THOM.) SAMSON

2.2.1 Classificação e Morfologia de *P. lilacinus*

Paecilomyces lilacinus é um fungo Eucarioto, pertencente à classe dos Deuteromicetos, ordem Moniliales (Hyphomycetes). Originalmente foi classificado no gênero *Penicillium* como *P. lilacinus* Thom. (1910), porém Sansom (1974) o reclassificou como

Paecilomyces Bain, em razão dos conidióforos surgirem em fiáldes, e da semelhança que apresentam com *Paecilomyces marquandii* (Masse) S. Hughes. Estas características fizeram com que as duas espécies fossem consideradas intermediárias entre os dois gêneros.

Este fungo obteve diferentes denominações devido a sua ampla distribuição e pequenas variações micológicas, a exemplo: *Graphium cicadicola* Speg (1911); *Spicaria violácea* Petch (1932); *S. rubidopurpurea* Aoki (1941), que Samson (1974) considerou como sendo sinônimos e o descreveu considerando suas hifas vegetativas como hialinas com diâmetro variável entre 2,5 a 4,0 µm. Também observou que as colônias crescidas em meio ágar-malte atingiam diâmetro entre 5 a 7 cm ao 14 dias na temperatura de 25 °C, as quais consistiam de um feltro basal de micélio floconoso, inicialmente branco, e que durante a esporulação apresentava coloração violácea.

2.2.2 Modo de Infecção de *P. lilacinus*

Ocorre por penetração do micélio do fungo e esporulação no interior dos ovos dispostos na matriz de ovos produzida pelas fêmeas adultas (Jatala et al., 1979) e os filtrados deste fungo possuem efeito tóxico neurotrópico sobre adultos de *Meloidogyne* spp. (Devrajan e Seenivasan, 2002).

O rompimento enzimático de elementos estruturais e fisiológicos, distúrbios metabólicos conduzidos a partir da biossíntese e transferência de substâncias tóxicas difusíveis pelo fungo são as atividades principais que afetam deletoriamente a fase reprodutiva do ciclo do nematóide (Morgan-Jones e Rodríguez-Kábana. 1985).

Paecilomyces lilacinus se caracteriza por atacar massas de ovos de nematóides exercendo uma forte pressão na capacidade reprodutiva, antes do início do ciclo reprodutivo de nematóide (Dunn et al., 1982). A eficiência deste parasita está associada ao estágio do ciclo de vida do hospedeiro, à agressividade e especificidade do fungo. Segundo La Mondia e Brodie (1984), ovos nos estádios iniciais do desenvolvimento embriogênico são mais facilmente parasitados do que quando possuem o juvenil de segundo estágio já formado. Fêmeas do gênero *Meloidogyne* produzem em média 400 a 500 ovos sob condições favoráveis, ao longo de um período variável de quatro a seis semanas. Os ovos ficam aglomerados em massas junto ao corpo das fêmeas (massas de ovos), interna ou externamente às raízes, protegidos em meio à substância gelatinosa produzida pelas fêmeas e secretada por

células glandulares retais. Além da proteção relativa que oferece frente aos inimigos naturais, tal material atua como “sinalizador” de eventuais condições externas desfavoráveis; assim, quando ocorre condição de seca mais prolongada e déficit hídrico no solo, a “geléia” fica fortemente desidratada, observando-se interrupção ou suspensão temporária ao desenvolvimento embrionário no interior dos ovos (Ferraz, 2001).

Segundo Morgan-Jones e Rodriguez-Kábana (1985), sua imobilidade o torna mais vulnerável ao ataque pelo micélio dos fungos do solo que os estádios móveis. Dunn et al. (1982) observaram a penetração de ovos de *Meloidogyne* por hifas de *P. lilacinus*. A parede dos ovos dos nematóides é constituída de três camadas, uma membrana vitelínica externa, delgada de natureza protéica, uma camada intermediária, devido provavelmente, a um enfraquecimento enzimático desta camada. A camada de quitina é, então, exposta ao fungo sendo degradada por ele. Devido aos vacúolos formados entre a camada quitinosa e a lipídica ocorre intumescimento do ovo, e a camada lipídica que seria a mais interna quase que desaparece completamente. Dessa forma, o fungo utiliza todo o material nutritivo de um possível juvenil que esteja embrionado, dando continuidade ao seu desenvolvimento vegetativo ou, ainda, formando estruturas de frutificação (Morgan-Jones e Rodriguez-Kábana, 1985).

2.2.3 Ocorrência e Desenvolvimento de *P. lilacinus*

Encontrado em diferentes regiões do mundo, tem sido observado com maior frequência em regiões quentes. Sua presença tem sido detectada em diferentes tipos de solo, cultivados ou não, sendo mais comuns em profundidades variáveis de 0 – 40 cm (Carneiro, 1986). A amplitude do fungo *Paecilomyces lilacinus* é grande quando comparado com outros fungos parasitas de ovos, pois freqüentemente tem sido isolado de cistos de *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952 em raízes de soja (Godoy et al., 1982), de ovos de *M. arenaria* (Godoy et al., 1983; Morgan-Jones et al., 1984) e de fêmeas de *M. javanica* e *M. incognita* (Souza e Ferrari, 1989). Silva et al. (1992) encontraram o *P. lilacinus* parasitando ovos de *M. incognita*, em amora, na região noroeste do estado do Paraná.

É um parasita facultativo de ovos de nematóides que pode crescer rapidamente “*in vitro*” e a sua sobrevivência no solo não depende da presença dos nematóides (Carneiro, 1992).

A alta incidência desta espécie nos solos brasileiros também foi observada por Tigano-Milani et al. (1993) ao encontrarem vinte e nove isolados de *P. lilacinus* em amostras de solo abrangendo um total de 22 municípios nos estados da BA, GO, MA, MG, MS, MT, RS, SP e TO.

Independente da origem geográfica dos isolados, o fungo *Paecilomyces lilacinus* se desenvolve em ampla faixa de temperatura entre 8 a 38 °C (Duncan, 1973). Fioretto e Villacorta (1981) estudando as exigências térmicas para o desenvolvimento de *P. lilacinus*, observaram que as temperaturas 5 e 35 °C foram biostáticas, e consideraram as temperaturas entre 24 e 25 °C como ótimas. Al-Hazmi et al. (1982), também, observaram que o parasitismo de alguns fungos sobre populações de *Meloidogyne* ssp. é maior em temperaturas variando de 23 a 25° C do que de 18 a 32° C.

Em comparação com as bactérias e actinomicetos, os fungos dessa espécie suportam bem as condições de acidez do solo. Segundo Domsch e Gams (1980), toleram um pH entre 2 e 10, com o ótimo de 6,5. Talvez esse seja o segredo da sua ampla distribuição nas regiões do mundo.

Foi observado em alguns estudos que concentrações elevadas de NaCl e MgSO₄ têm levado a modificações morfológicas nas populações (Mert e Dizbay, 1977; Pitt, 1973; Tresner e Hayes, 1971). A melhor esporulação tem sido observada em meio contendo 1% de NaCl, com ótimo crescimento sem produção de conídios em 3% (Mert e Dizbay, 1977) e esporulação reduzida a partir de 5 a 10% de NaCl (Tresner e Hayes, 1971). Seu crescimento é limitado a um potencial osmótico de -270 bars em meio de NaCl (Tresner e Hayes, 1971).

Utiliza fontes de carbono e energia a partir de um grande número de compostos carbônicos, entre os quais a maior parte inclui monossacarídeos (hexoses e pentoses) e dissacarídeos. A absorção de açúcares é estimulada pela presença do ácido nicotínico, o qual acelera o seu crescimento e a acumulação de carboidratos e lipídeos (Philips e Walker, 1958).

Não apresenta atividade celulolítica e pectinolítica (Carneiro, 1986), com moderada atividade hemicelulolítica e quitinolítica (Nordbring-Hertz, 1968; Okafor, 1967); porém apresenta boa capacidade lignolítica. Apresenta-se fortemente amilolítico e proteolítico (Nordbring-Hertz, 1968; Andreeva et al., 1972).

É citado como possuidor de efeito antibiótico (Marchisio e Colla, 1972) e fungistático (Brian e Hemming, 1947) a partir do filtrado de culturas e, dele são extraídos dois antibióticos: a lilacinin, com maior atividade contra os fungos do que contra as bactérias

Gram + (Yamano, 1971) e a leucostatina, poderoso bactericida (Gram +) e fungicida (Arai et al., 1973).

Substâncias produzidas “*in vitro*” por fungos e bactérias têm sido reportadas inibindo eclosão, afetando mobilidade e causando mortalidade em fitonematóides (Costa et al, 2000). Carneiro (1986) constatou no filtrado de cultura de *P. lilacinus* uma substância tóxica letal a ovos de *M. arenaria*. Fitters et al. (1993) estudaram a ação de filtrados desse fungo sobre a embriogênese de ovos de *M. hapla*, durante três semanas, em condições estéreis. Verificaram que em ovos tratados com os filtrados, o desenvolvimento do embrião foi paralisado depois de dois dias, com conseqüente morte em cerca de 88% dos embriões e Costa (2000) observou que o filtrado de *P. lilacinus* submetido a testes toxicológicos “*in vitro*” e “*in vivo*” era ativo contra a produção de ovos de *M. incognita*, o qual apresentou eficácia similar ao nematicida Aldicarbe.

2.2.4 Potencial de Biocontrole de *P. lilacinus*

A existência de patógenos obrigatórios como fungos associados a cistos e ovos de nematóides fitoparasitas é conhecida a mais de cinquenta anos (Korab, 1929; Rademacher e Schmidt, 1933; Rozyspal, 1934; Van Der Laan, 1956), mas o interesse pelo seu potencial de biocontrole veio a ocorrer no último decênio.

Foi reportado como parasita pela primeira vez em 1976 por Jatala, o qual observou a presença deste infectando fêmeas e ovos de *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949 e *Globodera pallida* (Stone) Behrens, sobre raízes de batatas (*Solanum tuberosum* L.) no Peru, chegando a destruir 80 a 90% dos ovos da primeira geração, após 10 a 12 semanas de incubação (Jatala, 1986).

Jatala et al. (1980, 1981) observaram o controle de *M. incognita* pelo fungo em parcelas com cultivos de batatas, em condições de campo, enriquecidas com matéria orgânica (10 ton/ha), tratadas com diversos nematicidas (50 Kg/ha de Nematicur 5G; 5 Kg/ha de Furadan 5G; 2,5 Kg/ha de Temik 10G), juntamente com *P. lilacinus*, onde 86% das massas de ovos se apresentaram infectadas, com destruição de 50% dos ovos e redução significativa no índice de galhas quando comparado aos demais tratamentos. Este foi o primeiro relato da aplicação bem sucedida de *P. lilacinus* no biocontrole em condições de campo.

Como agente de controle biológico de fitonematóides, *P. lilacinus* ganhou evidência à cerca de 20 anos em campos infestados por *M. incognita* na Malásia, Panamá, Peru, Filipinas, Porto Rico, Estados Unidos e outros países (Candanedo et al., 1983). Danos causados por espécies de *Meloidogyne* em uma série de culturas foram reduzidos após tratamentos do solo com grãos colonizados pelo fungo (Jatala et al., 1980; Lay et al., 1982; Noe e Sasser, 1984). Em todos os casos o fungo foi efetivo na redução do número de galhas nas raízes. Gaspard e Mankau (1985) trataram com *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* pequenas parcelas cultivadas com tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill. Cv. Tropic) altamente infestadas com *M. javanica*. Observaram que após o tratamento a população de ovos foi reduzida em cerca de 80% com aplicação dos dois fungos.

Nas Filipinas o produto comercial, chamado “BIOCON” e que tem como princípio ativo o fungo *P. lilacinus* tem sido empregado em larga escala para controle do nematóide de galhas e, também, no controle de *Radopholus similis* Cobb, 1913. Segundo Davide (1988), essa forma de controle proporcionou aumentos na produção de batata, tomate, quiabo e abacaxi entre 40 e 80%. Esse mesmo autor cita, ainda, que a eficácia no controle por este fungo foi superior aos nematicidas Nematicur (fenamifos), Triumph (isazofós) e Furadan (carbofuran).

Comparando o efeito do controle químico de nematóides com a utilização de carbofuran (40 g/planta) e o controle biológico com a utilização do fungo *P. lilacinus*, Devrajan e Rajendran (2001) verificaram que o controle químico efetivo foi obtido após 150 dias da aplicação (129 nematóides/5g de raiz). Nesse estágio a efetividade de *P. lilacinus* (30 g/kg de solo aos 60 dias após o plantio) foi muito boa (143,3 nematóides/ 5 g de raiz), comparável ao carbofuran.

No Brasil, os primeiros relatos sobre o parasitismo de ovos, de fêmeas e de juvenis de *M. incognita* por *P. lilacinus* e *V. chlamydosporium* foram feitos por Freire e Bridge (1985). Posteriormente, Carneiro e Cayrol (1991), Carneiro e Gomes (1993) e Carneiro e Kulczynski (1993) realizaram estudos mais detalhados, respectivamente, sobre a eficiência, produção e patogenicidade de *P. lilacinus*.

Costa e Campos (1997) observaram que *P. lilacinus* foi capaz de infectar 45 a 55% dos ovos no interior de fêmeas de *Heterodera glycines*; e em trabalho realizado por Coimbra et al. (1999), o isolado de *P. lilacinus* obtido de fêmeas de *Meloidogyne* sp. demonstrou alta capacidade de parasitismo em fêmeas de *M. javanica* “*in vitro*”.

Resultados interessantes, também foram obtidos por Freitas et al. (1999), os quais observaram que *P. lilacinus* reduziu significativamente o número de galhas radiculares

por meio da incorporação de grãos de arroz colonizados com este fungo ao substrato usado na produção das mudas, visando protegê-las contra o parasitismo de *M. javanica*, em condições de casa-de-vegetação.

De acordo com Alves e Campos (2003) o *P. lilacinus* reduziu significativamente o número de ovos de *M. incognita* e de galhas causadas por *M. javanica* e *M. incognita* raça 3, em casa-de-vegetação e sala climatizada em relação ao ambiente com solo aquecido, o que pode ser explicado pelo fato de a temperatura do solo entre 29 e 31° C ser mais propícia à rápida eclosão de J2 (Kaur e Mahajan, 1992), não permitindo que o fungo tivesse tempo de parasitar os nematóides

Dentro de uma espécie fúngica existem variações quanto à capacidade de colonizar os ovos de nematóides e, além disso, nem todas as linhagens de *P. lilacinus* apresentam eficiência idêntica para controle. Dunn et al. (1982) observaram que uma linhagem proveniente do México, isolada juntamente com *Sclerotinia minor* Jagger, foi incapaz de colonizar ovos de *M. incognita*. Por outro lado, Rodríguez-Kábana et al. (1984) observaram que um isolado obtido de ovos de *M. arenaria* foi mais eficiente no controle desse nematóide quando comparado a outro obtido de um inseto no Equador e, mais eficaz que uma linhagem isolada de *H. glycines*, este último, porém mais freqüente no solo.

Rodríguez-Kábana et al. (1984) e Stirling e West (1991) observaram que isolados de *V. chlamydosporium* e de *P. lilacinus* apresentavam variabilidade na patogenicidade, sendo esta mais acentuada para *P. lilacinus*.

Freitas et al. (1995), comparando 19 isolados de *P. lilacinus* de diferentes procedências quanto a patogenicidade a ovos de *M. javanica*, obtiveram 100% de parasitismo pelos isolados procedentes da Itália e do Peru e, 70% pelo isolado originário da França. Já os isolados brasileiros tiveram variação de 2 a 69% de ovos parasitados.

Ribeiro et al. (1999) avaliaram a capacidade predatória de 59 isolados de *Monacrosporium* spp. contra *M. javanica* e *H. glycines*. Esses autores observaram que a predação de juvenis de *M. javanica* variou de 71 a 100% para 27 isolados, enquanto, para *H. glycines*, 26 isolados não exerceram qualquer predação. Os outros 33 isolados exibiram máxima predação de apenas 1,2% de juvenis desse nematóide.

Mizobutsi et al. (2000) citaram que em ovos de *M. javanica* o fungo *P. lilacinus* apresentou 77% de parasitismo “*in vitro*”, mas a maioria dos isolados fúngicos testados mostrou-se pouco eficiente em parasitar ovos. *Paecilomyces lilacinus* também tem apresentado potencial como agente de controle biológico, em banana, para *M. incognita* e *R. similis* (Devrajan e Rajendran, 2001).

Santiago et al. (2006) observaram que 37 isolados de *P. lilacinus*, de amostras oriundas de 19 municípios distribuídos nos estados do MA, MS, MT, PA, PR, RS e SP, promoveram a redução da população de *M. paranaensis* nas raízes de tomateiro, quando comparados com a testemunha não tratada, em casa-de-vegetação, e apresentaram uma elevada taxa de sobrevivência no solo, características desejáveis para um agente de biocontrole.

No entanto, a eficiência desse fungo em condições de campo foi, anteriormente, contestada por Novaretti et al. (1986), Hewlett al. (1988) e Carneiro e Cayrol (1991), respectivamente, nas culturas de cana-de-açúcar, tabaco e tomateiro. Mas resultados contrários, realmente, podem ocorrer devido à inadequação dos métodos de produção de conídios do fungo, inadequação dos métodos de aplicação e avaliação dos ensaios (Kerry, 1990); e não adaptação do isolado a diferentes condições e tipos de solo (Carneiro, 1992), entre outros.

Estas observações, também, sugerem a existência de diferentes biótipos de *P. lilacinus*, seja quanto à amplitude e estabilidade no solo, bem como quanto a sua capacidade para o controle de espécies de *Meloidogyne* e, indica ainda a sua importância na escolha de isolados para a determinação da eficiência relativa de uma linhagem.

3. ARTIGO A: PATOGENICIDADE DE *Paecilomyces lilacinus* SOBRE *Meloidogyne paranaensis* EM CAFEIEIRO

3.1 Resumo

Paecilomyces lilacinus é uma espécie fúngica utilizada no controle biológico de nematóides de galhas. Assim, este trabalho objetivou avaliar a eficiência de dez isolados de *P. lilacinus* no controle de *Meloidogyne paranaensis*, obtidos na região de Londrina-PR, em dois experimentos conduzidos em casa-de-vegetação. Os isolados de *P. lilacinus* foram multiplicados em grãos de arroz parboilizados e autoclavados. No Experimento I, as mudas de cafeeiro cv. Icatú foram transplantadas para sacos de polietileno, contendo como substrato solos onde foram, anteriormente, cultivados tomateiros para multiplicação de *M. paranaensis* mais a mistura de 50 g de arroz colonizado (10^9 esporos do fungo.g⁻¹) com os 10 isolados de *P. lilacinus*. No segundo experimento, mudas de cafeeiro cv. Icatú foram transplantadas para sacos de polietileno contendo como substrato solo e areia (1:1) juntamente com 50 g de arroz colonizado com os isolados de *P. lilacinus*. Em seguida, as mudas foram inoculadas com suspensão contendo ± 5000 ovos de *M. paranaensis*. Nos dois experimentos, após quinze dias procedeu-se nova aplicação por cobertura de 50g dos isolados. O delineamento foi inteiramente casualizado com doze tratamentos (dez isolados + uma testemunha inoculada com *M. paranaensis* e uma testemunha não inoculada com *M. paranaensis*) e dez repetições. Após 90 dias, foram avaliadas características de desenvolvimento das plantas e a eficiência dos isolados na capacidade reprodutiva de *M. paranaensis*. Os isolados que reuniram as características mais desejáveis para o controle de *M. paranaensis*, no primeiro experimento, foram Pae 03, 12 e 20; e no segundo experimento, foram Pae 13, 18 e 22.

Palavras-chave: 1. Controle Biológico. 2. Nematóide de Galha 3. Fungo Endoparasita 4. Parasitismo 5. Supressividade

Abstract

Paecilomyces lilacinus is fungal species used in the biological control of nematodes. Thus, this work had as objective to evaluate the efficiency of ten isolates of *P. lilacinus* from the region of Londrina-PR in the control of *M. paranaensis*, in two experiments carried out at greenhouse. Isolates of *P. lilacinus* had been multiplied in grains of rice. In the first experiment, the coffee conditions plantlets cv. Icatú had been transplanted for polyethylene bags, with as substrate soil previously cultivated with tomato plants for *Meloidogyne paranaensis* multiplication. The soil was mixed with 50.g of rice colonized (10^9 spore of fungi.g⁻¹) of ten isolates of *P. lilacinus*. In the second experiment, coffee plantlets cv. Icatú had been transplanted for polyethylene bags with 50 g of rice colonized of isolated of *P. lilacinus*. After that, the plantlets had been inoculated with suspension with 5000 eggs of *M. paranaensis*. In the two experiments, after fifteen days a new application was made with 50g of the isolates. The design was completely randomized with twelve treatments (ten isolates + a control inoculated with *M. paranaensis* and a control not inoculated) and ten repetitions. After 90 days, characteristics of plant development and efficiency of the isolates in the reproductive capacity of *M. paranaensis* were evaluated. The isolates with the best characteristics for *M. paranaensis* control, in the first experiment, were Pae 03, 12 and 20; and in the second experiment, were Pae 13, 18 and 22.

Index terms: Biological Control, Root-knot Nematode, Parasite fungus, Parasitism, Suppression.

3.2 Introdução

Os nematóides associados ao cafeeiro compreendem um grupo numeroso de espécies, destacando-se as do gênero *Meloidogyne* Goeldi, amplamente distribuídas em áreas cafeeiras do Brasil e, que vêm causando grandes perdas para os produtores e para a economia do país. Cerca de 15 espécies já foram descritas como parasitas do cafeeiro no mundo (Campos et al., 1990; Carneiro e Almeida, 2000). Mais particularmente no Brasil, as plantações de cafeeiro são parasitadas, na maioria dos casos, por três espécies principais: *M. exigua* Goeldi, 1892, *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. paranaensis* Carneiro et al. 1996 (Carneiro e Almeida, 2000; Gonçalves et al., 2000).

Nos Estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais, as espécies *M. incognita*, *M. paranaensis*, *M. exigua* e *M. coffeicola* (Lordello e Zamith) têm sido reportadas em áreas de café, havendo flutuações na predominância de uma espécie em relação a outras. Acredita-se que *M. coffeicola* tenha sido erradicada de várias plantações, embora ainda venha ocorrendo esporadicamente (Carneiro e Almeida, 2000). As perdas ocasionadas por essas três espécies implicam em importante queda da produtividade global do café (Guerra Neto et al., 1985; Campos et al., 1990), sendo o controle desses nematóides de grande interesse agrônomo.

Para diminuir as perdas das lavouras de café e reduzir para níveis mínimos os danos causados ao ambiente com a utilização de produtos químicos, o controle biológico vem sendo considerado uma das alternativas, dentro de uma abordagem integrada, na qual se busca assegurar o desenvolvimento sustentável da agricultura. O uso de inimigos naturais é promissor e torna-se um fascinante campo de investigação, sendo potencialmente útil dentro das medidas duráveis (Stirling, 1991), podendo reduzir populações de fitonematóides para limiares abaixo do nível de dano econômico (Duncan, 1991).

Paecilomyces lilacinus (Thom.) Samson é um fungo do solo que tem se mostrado efetivo no biocontrole de espécies de *Meloidogyne* (Kerry, 1990). Caracteriza-se por penetrar os ovos de nematóides, destruindo o embrião, podendo exercer forte pressão na capacidade reprodutiva das fêmeas que são colonizadas e, posteriormente, mortas (Dunn et al., 1982). No Brasil, existem registros de *P. lilacinus* em diferentes tipos de solo, cultivados ou não, em profundidades variáveis de 0-40 cm ou mais (Carneiro, 1986).

Apresenta distribuição cosmopolita e maior frequência em solos agricultáveis (Domsch et al., 1980), tendo sido frequentemente isolado a partir de diferentes

hospedeiros ou de substratos provenientes de várias localidades (Faria e Tigano, 1996; Sosa-Gomez, 2002).

Costa et al. (1997), estudando a associação de fungos a cistos de *Heterodera glycines*, encontraram *P. lilacinus* nos municípios de Iraí de Minas - MG e Chapadão do Céu - GO. Santiago et al. (2006) obtiveram 37 isolados de *P. lilacinus* em amostras de solo oriundas de 19 municípios, distribuídos nos estados do MA, MS, MT, PA, PR, RS e SP.

Estudos envolvendo a seleção de isolados de *P. lilacinus* para o controle de nematóides são importantes na busca de microrganismos eficientes e adaptados às diferentes regiões. Freitas et al. (1995), comparando a eficiência do parasitismo de 19 isolados de *P. lilacinus*, observaram que 100% dos ovos de *M. javanica* estavam parasitados com os isolados originários da Itália e do Peru e cerca de 70% com o isolado da França. Já o percentual de ovos parasitados pelos isolados brasileiros variou de 2 a 69%. Posteriormente, Freitas et al. (1999) obtiveram sucesso na proteção de mudas de tomateiro, em casa-de-vegetação, contra *M. javanica*, por meio da incorporação de *P. lilacinus* ao substrato.

Entretanto, em estudos anteriores, Novaretti et al. (1986), na cultura de cana-de-açúcar, Hewlett et al. (1988), em tabaco, e Carneiro e Cayrol (1991), em tomateiro, contestaram a eficiência de isolados do *P. lilacinus* como agentes de controle em condições de campo. Mas resultados contrários podem ocorrer, por vezes, devido à inadequação dos métodos de produção de conídios do fungo, inadequação dos métodos de aplicação e avaliação dos ensaios (Kerry, 1990), e não adaptação do isolado a diferentes condições e tipos de solo (Carneiro, 1992), entre outros.

Embora resultados encorajadores sejam observados em condições brasileiras (Carneiro e Gomes, 1993; Costa e Campos, 1997; Freitas et al., 1999; Mizobutsi et al., 2000; Santiago et al., 2006), informações básicas sobre o comportamento de *P. lilacinus* como parasita das diferentes espécies dos nematóides de galhas são necessárias para que seu emprego na agricultura seja recomendado.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo selecionar isolados de *P. lilacinus*, obtidos na região de Londrina-PR, quanto a sua eficiência no controle de *M. paranaensis*, em casa-de-vegetação. Esses conhecimentos são importantes para que seja possível viabilizar a cafeicultura em áreas infestadas por essa espécie, buscando restabelecer o equilíbrio natural no solo e, assim, diminuir as perdas de produtividade causadas por este parasita.

3.3 Material e Métodos

A determinação da eficiência dos isolados do fungo *P. lilacinus* no controle de *M. paranaensis* em plantas de cafeeiro cv. Icatú foi realizada em dois experimentos, conduzidos em casa-de-vegetação, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 12 tratamentos, constituídos por 10 isolados de *P. lilacinus*, sendo uma testemunha não tratada com *P. lilacinus* e não inoculada com *M. paranaensis* e uma testemunha apenas inoculada com *M. paranaensis*, distribuídos em dez repetições.

Os isolados de *P. lilacinus* avaliados pertencem à coleção de organismos do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina, os quais foram obtidos em áreas de cultivo de cafeeiro na região de Londrina - PR, a exceção do isolado Pae 03 obtido em área de milho, no período de março a maio de 2005 (Tabela 3.1). Estes foram previamente selecionados quanto à capacidade de parasitar ovos de *M. paranaensis* “*in vitro*”, em diferentes temperaturas (Cadioli et al., 2007).

Tabela 3.1 - Origem dos isolados de *Paecilomyces lilacinus* utilizados.

Código de Acesso	Hospedeiro ou Substrato	Município / Estado
Pae 03	Milho	Londrina, PR
Pae 10	Café	Londrina, PR
Pae 12	Café	Londrina, PR
Pae 13	Café	Londrina, PR
Pae 18	Café	Cambé, PR
Pae 20	Café	Cambé, PR
Pae 21	Café	Cambé, PR
Pae 22	Café	Cambé, PR
Pae 24	Café	Cambé, PR
Pae 28	Café	Cambé, PR

Estes foram isolados, por meio da técnica de diluição seriada dos solos e plaqueamento em meio semi-seletivo de Alves et al. (1998) modificado, com 20 g de farinha de aveia, 20 g de ágar, 300 mg de Venturol (dodine 650 g Kg⁻¹), 50 mg de solução de violeta genciana, 5 mg de Tetraciclina (Cloridrato de tetraciclina, 300 mg), diluídos em 1000 mL de água destilada. Após a obtenção e a identificação dos isolados de *P. lilacinus*, estes foram armazenados em tubos de ensaio contendo meio BDA (batata dextrose ágar) em BOD. Posteriormente, os isolados selecionados para esse estudo foram transferidos para placas de Petri em meio BDA (20g de ágar, 20g de dextrose, 200g de batata, 1L de água destilada e 30mg de estreptomicina), e incubados em B.O.D. durante sete dias até o desenvolvimento das colônias puras de *P. lilacinus*.

Para multiplicação dos isolados de *P. lilacinus*, em quantidade suficiente para aplicação em vasos, foram utilizados grãos de arroz parboilizados distribuídos, em porções de 100 gramas juntamente com 100 mL de água, em embalagens de polipropileno com capacidade para 1 kg, e submetidos à autoclavagem durante uma hora a 120 °C e 1 atm. Após o resfriamento, cada embalagem foi inoculada com três discos de 5 mm de diâmetro retirados das colônias de *P. lilacinus* desenvolvidas em meio de BDA por sete dias. Após a inoculação, as embalagens foram deixadas em temperatura ambiente em um período de 15 dias para que o fungo colonizasse o substrato.

O inóculo de *M. paranaensis* foi obtido através da multiplicação em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) cv. Santa Cruz, a partir das quais procedeu-se à extração dos ovos, segundo a metodologia de Boneti e Ferraz (1981), obtendo-se uma suspensão ajustada para concentração média de 1.000 ovos de eventuais juvenis.mL⁻¹.

Experimento I

Antes do cultivo das mudas de cafeeiro, para a determinação da eficiência dos isolados de *P. lilacinus* no controle de *M. paranaensis*, plântulas de tomateiro cv. Santa Cruz com 16 dias de idade foram transplantadas para vasos de plástico de 1,5 L contendo como substrato solo e areia lavada, previamente tratados com brometo de metila (150 mL.m⁻³), mais esterco de curral e esterilizado em autoclave a 120°C por quatro horas, na proporção de 1:1:1 (v.v⁻¹). Aos 15 dias do transplântio, as plântulas foram inoculadas na região da rizosfera com 5 mL da suspensão contendo \pm 5000 ovos e eventuais juvenis de *M. paranaensis*, com o auxílio de pipeta esterilizada.

Em seguida, as plantas foram mantidas durante 45 dias para simular uma condição de solo altamente infestado e permitir a produção da segunda geração de ovos, uma vez que *P. lilacinus* tem preferência pelo parasitismo destes. Decorrido esse período, as plantas juntamente com o substrato de desenvolvimento foram removidas do vaso e a parte aérea foi descartada. As raízes foram cortadas e misturadas ao mesmo substrato e, a este procedeu-se a inoculação dos isolados de *P. lilacinus* através da adição e mistura de 50 g de arroz colonizado (10⁹ esporos do fungo.g⁻¹ de arroz). O substrato formado pela mistura de raízes e de grãos de arroz colonizados, posteriormente, foi distribuído em sacos de polietileno com capacidade para 2,0 L. Na seqüência, efetuou-se o transplântio de mudas de cafeeiro cv. Icatú, na proporção de uma por saquinho.

Nas testemunhas, não tratadas com *P. lilacinus* e não inoculadas com *M. paranaensis* foram introduzidas apenas 50 gramas de arroz não colonizado. Já nas

testemunhas não tratadas com *P. lilacinus* e com inoculação do nematóide foram introduzidas 50 gramas de arroz não colonizado mais as raízes contendo inóculo de *M. paranaensis*. Aos 15 dias do transplântio das mudas de cafeeiro, efetuou-se nova aplicação em cobertura dos tratamentos (50 g de arroz colonizado com os isolados). As práticas de adubação, irrigação e tratos culturais foram realizadas de acordo com as recomendações para produção de mudas de cafeeiro.

Aos 90 dias da primeira inoculação do fungo, foram avaliados: altura de plantas, tomada do colo até o ápice; diâmetro do caule, a 2 cm do colo da planta; pesos da matéria fresca da parte aérea e do sistema radicular; número de ovos por sistema radicular; números de juvenis em 250 cc de solo; além da sobrevivência dos isolados ao final deste experimento.

Para determinação dos pesos da matéria fresca, a parte aérea foi separada do sistema radicular na região do colo, e em seguida determinou-se o peso. As raízes foram lavadas em água corrente para remoção dos detritos, dispostas sobre papel absorvente até a eliminação do excesso de água e, em seguida, foram pesadas.

Posteriormente as raízes foram processadas empregando-se a técnica de Boneti e Ferraz (1981) para extração e contagem dos ovos. Para determinação do número de juvenis no substrato de cultivo foi empregada a técnica de Jenkins (1964).

Para avaliar a sobrevivência dos fungos no solo foram coletadas, para cada isolado, amostras de 10 gramas de solo de cinco vasos por tratamento. Para cada amostra, procedeu-se à diluição seriada e, da diluição 10^{-3} , alíquotas de 1 mL foram distribuídas em placas de Petri contendo o meio semi-seletivo, em número de cinco repetições por amostra, onde no sexto dia de incubação foi determinado o percentual de desenvolvimento das colônias em cada placa.

Os dados obtidos foram submetidos às análises de variância e ao teste de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro, para comparação de médias.

Experimento II

Nesse segundo experimento, as mudas de cafeeiro cv. Icatú foram transplantadas diretamente para sacos de polietileno com capacidade para 2,0 L, na proporção de uma muda por saco plástico, contendo como substrato solo e areia lavada, previamente tratados com brometo de metila (150 mL.m^{-3}), esterco de curral e esterilizado em autoclave a 120°C por quatro horas, na proporção de 1:1:1 (v.v⁻¹), mais os isolados de *P. lilacinus* aplicados por meio da adição e mistura de 50 g de arroz colonizado (10^9 esporos do fungo.g⁻¹

de arroz). Nas testemunhas não tratadas com o fungo e não inoculadas foram introduzidos apenas 50 gramas de arroz não colonizado. Já nas testemunhas não tratadas e inoculadas com *M. paranaensis* foram introduzidas 50 gramas de arroz não colonizado mais 5 mL da suspensão contendo ± 5000 ovos e eventuais juvenis de *M. paranaensis*.

Uma nova aplicação dos tratamentos com os isolados em cobertura foi realizada aos 15 dias do transplântio das mudas de cafeeiro. As práticas de adubação, irrigação e tratos culturais foram efetuadas de acordo com as recomendações para produção de mudas de cafeeiro.

Aos 90 dias da primeira inoculação do fungo, foram avaliados: altura de plantas, tomada do colo até o ápice; diâmetro do caule, a 2 cm do colo da planta; pesos da matéria fresca da parte aérea e do sistema radicular; malformações nas raízes; números de juvenis em 250 cc de solo; além da sobrevivência dos isolados ao final do experimento.

Para determinação dos pesos da matéria fresca, a parte aérea foi separada do sistema radicular na região do colo, e em seguida determinou-se o peso. As raízes foram lavadas em água corrente para remoção dos detritos, dispostas sobre papel absorvente até a eliminação do excesso de água e, em seguida, foram pesadas. Posteriormente as raízes foram avaliadas quanto à presença de malformações em função da dificuldade de encontrar galhas definidas nas raízes. Para determinação do número de juvenis no substrato de cultivo foi empregada a técnica de Jenkins (1964).

Para avaliar a sobrevivência dos fungos no solo foram coletadas, para cada isolado, amostras de 10 gramas de solo de cinco vasos por tratamento. Para cada amostra, procedeu-se à diluição seriada e, da diluição 10^{-3} , alíquotas de 1 mL foram distribuídas em placas de Petri contendo o meio semi-seletivo, em número de cinco repetições por amostra, onde no sexto dia de incubação foi determinado o percentual de desenvolvimento das colônias em cada placa.

Os dados obtidos foram submetidos às análises de variância e ao teste de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro, para comparação de médias.

3.4 Resultados e Discussão

A relação dos isolados de *P. lilacinus* com a altura das plantas, diâmetro do caule e pesos da parte aérea e raízes do cafeeiro estão apresentadas nas Tabelas 3.2 e 3.4, (experimento 1 e 2, respectivamente). Já a relação, entre presença de ovos por raízes, (experimento I), malformações radiculares (experimento II), juvenis de *M. paranaensis* e sobrevivência de *P. lilacinus* no solo (experimentos I e II) estão nas Tabelas 3.3 e 3.5, sendo estas características de fundamental importância para escolha dos melhores isolados.

Experimento I

A infecção das raízes por nematóides pode provocar redução no porte da planta. Quanto a esta característica, notou-se que as plantas que receberam os tratamentos com os isolados Pae 10, 24, 18, 22, 13, e 28 apresentaram, respectivamente, altura média superior à da testemunha. Já plantas tratadas com os isolados Pae 03, 12, 20, 21 não diferiram significativamente da testemunha (Tabela 2). Na avaliação do diâmetro do caule, notou-se que não houve diferença significativa para nenhum dos isolados com relação à testemunha, indicando que estes isolados não interferiram nesta característica da planta, durante o período avaliado (Tabela 2).

Com relação ao peso fresco da parte aérea, notou-se que as plantas tratadas com os isolados de *P. lilacinus* apresentaram pesos superiores ao da testemunha, com destaque para os isolados Pae 24, 28, 10, 22, 13 e 18 respectivamente, os mesmos tratamentos que apresentaram maior altura de plantas.

Resultados inversos foram observados para o peso fresco das raízes, onde as plantas tratadas com Pae 03, 10, 12, 13, 18, 20 e 21, apresentaram pesos menores em comparação com a testemunha inoculada, e justamente entre estes tratamentos estiveram as melhores alturas de planta (Tabela 2). Segundo Hutangura et al. (1999) e Carneiro (2000), o aumento de massa de raízes infectadas por nematóides seria consequência do efeito combinado da emissão de novas raízes secundárias, nos locais de infecção do nematóide e formação de galhas, isto justificaria os resultados obtidos nos isolados Pae 24 e Pae 28, que resultaram em maior peso de raiz e maior número de ovos por raízes (Tabela 2 e 3, respectivamente).

Quanto ao número de ovos de nematóides e eventuais juvenis por sistema radicular, todos os isolados mostraram a capacidade na redução destes nas raízes em comparação com a testemunha, com destaque para os isolados Pae 03, 20, 21 e 22 que apresentaram excelentes resultados se enquadrando no mesmo grupo da testemunha não

inoculada (Tabela 3). Resultados semelhantes foram verificados por Felli et al. (1985), Cabanillas et al. (1989a) e Freitas et al. (1999), trabalhando com as espécies *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiros tratados com diferentes isolados de *P. lilacinus*.

Com relação à eficiência dos isolados contra os juvenis de *M. paranaensis* no solo, os dados foram variáveis, verificando-se que, com exceção dos isolados Pae 03 e 12 que proporcionaram acentuada redução da população de juvenis, os tratamentos com os demais isolados apresentaram números de juvenis acima da testemunha, ou seja, permitiram o aumento da população de nematóides no solo, característica não desejável para escolha dos isolados (Tabela 3). Segundo Morgan-Jones & Rodriguez-Kábana (1995), os estádios juvenis, em função de sua mobilidade, são menos vulneráveis ao ataque pelo micélio dos fungos. La Mondia & Brodie (1984), apontaram que ovos nos estádios iniciais do desenvolvimento embriogênico são mais facilmente parasitados do que quando já possuem o juvenil de segundo estágio já formado.

Na análise da sobrevivência do *P. lilacinus* no solo, notou-se um ótimo índice de sobrevivência dos isolados no solo com destaque para os isolados Pae 03, 12, 20, 21 e 22, podendo estes terem mais condições de adaptação às diversas condições (Tabela 3).

Tabela 3.2. Efeito dos isolados de *Paecilomyces liacinus* sobre o desenvolvimento das plantas de cafeeiro inoculadas com *Meloidogyne paranaensis*, experimento I.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro do Caule (cm)	Peso (g)	
			Parte aérea	Raízes
Pae 03	29,35 ¹ b ²	4,44 a	11,33 b	7,96 b
Pae 10	38,50 a	4,82 a	19,83 a	9,38 b
Pae 12	30,40 b	4,65 a	14,26 b	9,62 b
Pae 13	36,05 a	4,61 a	18,70 a	9,28 b
Pae 18	38,25 a	4,73 a	16,97 a	8,96 b
Pae 20	29,75 b	4,27 a	13,69 b	8,20 b
Pae 21	27,95 b	4,17 a	11,48 b	7,66 b
Pae 22	37,95 a	4,51 a	18,86 a	10,14 a
Pae 24	38,40 a	4,94 a	22,47 a	11,47 a
Pae 28	35,80 a	4,73 a	22,41 a	10,62 a
Test. inoculada	32,50 b	4,84 a	11,22 b	11,53 a
Test. não inoculada	31,60 b	4,59 a	10,75 b	11,50 a
CV (%)	14,96	15,20	31,30	24,49

¹ Os dados são médias de 10 repetições.

² Médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 3.3. Efeito dos isolados de *Paecilomyces liacinus* sobre o parasitismo de *Meloidogyne paranaensis* e sobrevivência dos isolados ao final do experimento I.

Tratamentos	Juvenis no solo (n°)	Ovos nas raízes (n°)	Sobrevivência (%)
Pae 03	166,67 ¹ j ³	3,48 d	7,63 ² a
Pae 10	1013,33 g	5,68 c	5,38 b
Pae 12	246,67 i	6,25 c	7,89 a
Pae 13	1500,00 f	4,27 c	6,32 b
Pae 18	2446,67 c	5,03 c	4,00 c
Pae 20	1600,00 e	2,90 d	7,06 a
Pae 21	1733,33 d	3,75 d	6,82 a
Pae 22	3280,00 b	3,63 d	8,13 a
Pae 24	1633,33 e	5,63 c	4,35 c
Pae 28	3893,33 a	8,31 b	2,88 d
Test. inoculada	573,33 h	12,25 a	0,71 e
Test. não inoculada	0,00 k	0,71 e	0,71 e
CV (%)	2,86	72,28	17,65

¹ Os dados são médias de 10 repetições e foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ para análise estatística.

² Os dados são médias de 25 repetições e foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ para análise estatística.

³ Médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

Experimento II

Foi observado quanto à altura de plantas de cafeeiro que os isolados Pae 12, 03, 10 e 13 não diferiram estatisticamente das testemunhas, e apresentaram maior crescimento e conseqüentemente maior peso das partes aéreas em relação aos demais isolados, (Tabela 4). Foi observado também que a testemunha inoculada teve um menor crescimento da parte aérea em relação à testemunha não inoculada com o *M. paranaensis*, isto corrobora com Arruda (1960), o qual citou que em áreas infestadas com as espécies do gênero *Meloidogyne*, o crescimento, translocação de água e nutrientes e a produção do cafeeiro é seriamente comprometida.

Em relação ao diâmetro do caule, notou-se que não houve diferença significativa para nenhum dos isolados com relação às testemunhas, ou seja, estes não interferiram no diâmetro do caule, durante o período experimental (Tabela 4).

Na avaliação do peso fresco da parte aérea foi observado que os isolados Pae 03, 10 e 12 não diferiram das testemunhas, e os demais isolados se enquadraram em um grupo com menores pesos. Já na avaliação de peso fresco da raiz, observou-se que a testemunha não inoculada de *M. paranaensis* diferiu estatisticamente dos demais tratamentos

apresentando maior peso radicular, uma vez que não teve fatores em detrimento de seu desenvolvimento. Já os isolados Pae 03, 10, 12, 20, 21 e 24 não diferiram estatisticamente da testemunha inoculada com *M. paranaensis*, apresentando maiores pesos.

Os tratamentos com os isolados Pae 03, 10, 13, 18, 22 e 24 apresentaram significativa redução na presença de malformações em comparação aos demais isolados e em relação, também, à testemunha inoculada com *M. paranaensis* mostrando-se eficientes no controle, (Tabela 5), destacando-se dos demais o isolado Pae 03. Estes resultados concordam com os encontrados por Jatala (1985), o qual observou que *P. lilacinus* foi capaz de reduzir o número de galhas de *M. incognita* em raízes de tomateiro. Esta diminuição pode ter sido motivada pelo parasitismo preferencial de ovos pelo fungo, ocasionando a morte dos embriões, o que resultou em menor número de juvenis infectantes (Jatala, 1986).

Com relação à eficiência dos isolados de *P. lilacinus* contra *M. paranaensis*, na avaliação do número de juvenis totais no solo notou-se que os isolados Pae 18 e 22, foram os melhores, pois reduziram significativamente a população destes no solo. Já os isolados Pae 12, 20 e 28 apresentaram pouca capacidade de parasitar os juvenis no solo, isto pode ser explicado pela eficiência deste fungo estar associada ao estágio do ciclo de vida do hospedeiro, ou seja, apresentam preferência aos estádios sedentários (Morgan-Jones & Rodriguez-Kábana, 1985). Tratamentos com os demais isolados apresentaram números de juvenis intermediários, característica não desejável na escolha final dos isolados (Tabela 5).

Por último analisou-se uma característica de suma importância que está relacionada com a longevidade e sobrevivência do *P. lilacinus* no solo, sendo a mesma indispensável na escolha dos melhores isolados. Notou-se um ótimo índice de sobrevivência dos isolados no solo com destaque para os isolados Pae 12 e 22 sendo estes se adaptarem melhor às mais variáveis condições (Tabela 5). Contudo o isolado Pae 12, apesar de boa sobrevivência no solo, não teve bom desempenho nos demais requisitos para a escolha do isolado mais eficiente, o contrário é observado no isolado Pae 22, que apresentou melhores resultados principalmente na diminuição de juvenis no substrato. Godoy et al. (1983), também, observaram que os isolados de *P. lilacinus* além de eficientes na redução da infestação de *M. arenaria* em abóbora (*Curcubita máxima*, Duch) apresentaram elevada capacidade de colonização e sobrevivência no solo em condições de casa-de-vegetação.

Tabela 3.4. Efeito dos isolados de *Paecilomyces liacinus* sobre o desenvolvimento das plantas de cafeeiro inoculadas com *Meloidogyne paranaensis*, experimento II.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro do Caule (cm)	Peso (g)	
			Parte aérea	Raízes
Pae 03	40,4 a	5,04 a	23,85 a	16,80 b
Pae 10	38,4 a	4,76 a	25,64 a	19,17 b
Pae 12	40,65 a	5,54 a	23,55 a	17,28 b
Pae 13	36,9 a	4,73 a	18,69 b	11,47 c
Pae 18	32,7 b	4,14 a	11,83 b	10,45 c
Pae 20	34,15 b	4,84 a	18,64 b	14,55 b
Pae 21	33,22 b	4,98 a	19,72 b	14,72 b
Pae 22	35,5 b	4,71 a	18,87 b	11,71 c
Pae 24	35,8 b	4,47 a	19,49 b	16,62 b
Pae 28	32,4 b	4,68 a	13,61 b	8,58 c
Test. inoculada	40,2 a	4,93 a	24,49 a	19,69 b
Test. não inoculada	39 a	5,68 a	26,83 a	30,03 a
CV (%)	16,97	19,53	42,65	41,63

¹ Os dados são médias de 10 repetições

² Médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 3.5. Relação dos isolados de *P. lilacinus* quanto ao parasitismo de *M. paranaensis* avaliada no experimento II.

Tratamentos	Juvenis no solo (n°)	Malformações nas raízes (n°)	Sobrevivência (%)
Pae 03	513,33 ¹ f ³	18,70 b	52,00 ³ d
Pae 10	820,00 e	29,40 b	69,00 c
Pae 12	1386,67 c	50,80 a	93,00 a
Pae 13	426,67 f	22,70 b	83,00 b
Pae 18	133,33 g	19,90 b	79,00 b
Pae 20	1033,33 d	48,80 a	56,00 d
Pae 21	453,33 f	45,00 a	52,00 d
Pae 22	193,33 g	31,70 b	93,00 a
Pae 24	433,33 f	30,50 b	48,00 d
Pae 28	2086,67 b	40,10 a	56,00 d
Test. inoculada	2653,33 a	49,30 a	0,00 e
Test. não inoculada	0,00 h	0,00 c	0,00 e
CV (%)	10,08	46,98	12,36

¹ Os dados são médias de 10 repetições e foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ para análise estatística. ² Os dados são médias de 25 repetições e foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ para análise estatística. ³ Médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

3.5 Conclusões

No experimento I, os isolados que reuniram as características mais desejáveis para o combate ao *M. paranaensis* foram os isolados Pae 03, 12 e 20, pois apesar de apresentarem baixa eficiência contra os juvenis, foram eficientes no controle dos nematóides nas raízes e tiveram elevada sobrevivência. E o isolado Pae 03 foi o que melhor reuniu as características desejáveis para um controle efetivo. Já no experimento II, os isolados que apresentaram as características mais desejáveis para o controle de *M. paranaensis* foram Pae 13, 18, 22.

Esses resultados variáveis indicam que mais estudos têm que ser realizados com relação às melhores condições de desenvolvimento e formas de aplicação dos isolados, além de experimentos em condições de campo, para validação dos resultados.

3.6 Referências Bibliográficas

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. (Eds.) São Paulo: FEALQ, 1998. p.289-381.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para a extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.6, n.3, p.533. 1981.

CABANILLAS, E.; Barrer, K. R.; Nelson, L. A. Growth of isolates of *Paecilomyces lilacinus* on their efficacy in biocontrol of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.21, n.2, p.164-172, 1989a.

CADIOLI, M. C.; SANTIAGO, D. C.; HOSHINO, A. D.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas “*in vitro*”. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 305-311, mar./abr., 2007.

CAMPOS, V. P.; SIVAPALAN, P. ; GNAPRAGASM, N. C. Nematodes of coffee, cocoa and tea. In: LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J.. (Org.). **Plant parasitic nematode in sub tropical and tropical agriculture**. 1 ed. Londres: C.A.B. International, 1990, p.420-451.

CARNEIRO, R.M.D.G. **Estude des Possibilities D’utilisation du Champignon Nematophage *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson, 1974, Comme Agent de Lutte Biologique contre *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889), Chitwood, 1949**. 1986. 119f. Tese (Doutorado) - Cours do Pos Graduation in Parasitologie, Academie de Montpellier. Universite des Sciences et Techniques du Languedoc, France.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CAYROL, J.C. Relationship between inoculum density of the nematophagus fungus *Paecilomyces lilacinus* and control of *Meloidogyne arenaria* on tomato. **Revue Nematologie**. v.14, n.4, p.629-634, 1991.

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

CARNEIRO, R.M.D.G.; GOMES, C.B. Metodologia e teste de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.7, n.1, p. 66-75, 1993.

CARNEIRO, R.M.D.G; ALMEIDA, M.R.A. Distribution of *Meloidogyne* spp. on coffee in Brazil: Identification, characterization and intraspecific variability. In: ANTHONY, F.; RODRÍGUEZ, E. **Mejoramiento sostenible del café Arábica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, con énfasis en la resistencia a los nemátodos**. (eds). Turrialba, Costa Rica: CATIE/IRD, 2000. p. 43-48.

COSTA, S.B. et al. Fungos associados a cistos de *Heterodera glycines* no Brasil. **Nematologia Brasileira**. v.21, n.2, p.31-37, 1997.

COSTA, S. B.; CAMPOS, V. P. Obtenção de Fêmeas de *Heterodera glycines* em hidroponia e testes de patogenicidade de fungos isolados de cistos a fêmeas de *H. glycines* e de *Meloidogyne* spp. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.23, p.239-243, 1997.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of Soil Fungi**. New York: Academic Press Inc. 1980. v.1, p .436.

DUNCAN, L.W. Current options for nematode management. **Annual Review of Phytopathology**. v. 29, p.469-490, 1991.

DUNN, M.T.; SAYRE, R. M.; CANELL, A.; WERGIN, W. P. Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson as observed with scanning electron microscope. **Scanning Electron Microscopy**. p.1351-1357, 1982.

FARIA, M.R.; TIGANO, M.S. **Coleção de fungos entomopatogênicos do Cenargen**. (Eds.). Brasília: Embrapa, Serviço de Produção e Informação, 1996. 76p.

FELLI, L.F.S. et al. Efeito de *Paecilomyces lilacinus*, carbamatos e matéria orgânica no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v.9, (único), p.34-35, 1985.

FREITAS, L. G.; FERRAZ, J. J. Effectiveness of Different Isolates of *Paecilomyces Lilacinus* and an Isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the Control of *Meloidogyne Javanica*. In: International Congress of Tropical Nematology, **Nematropica**. Rio Quente, Brasil.. v.25. p.88-88. 1995.

FREITAS, L. G. ; FERRAZ, S.; ALMEIDA, A. M. S. . Controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro pela produção de mudas e substrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. **Nematologia Brasileira**, Brasília - DF, v. 23, n. 1, p. 65-73, 1999.

GODOY, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G. Fungal parasites of *Meloidogyne arenaria* eggs in Alabama soil. A mycological survey and greenhouse studies. **Nematropica**. v.13, p.207-13. 1983.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M.B.; GUERREIROFILHO, O.; FAZUOLI, L.C.; MEDINA-FILHO, H.P. Nematóides parasitos (*Meloidogyne* spp) do cafeeiro: Manejo genético e químico no Brasil. In : ANTHONY, F.; RODRÍGUEZ, E. **Mejoramiento sostenible del café Arabica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, con énfasis em la resistencia a los nemátodos**. (eds). Turrialba, Costa Rica: CATIE/IRD. 2000. p. 49-54.

GUERRA NETO, E. G.; D'ANTONIO, A. M.; FREIRE, A. C. F. **Influência do *Meloidogyne exigua* Goldi, 1887, no desenvolvimento de lavouras de *Coffea arábica* L., variedade Novo Mundo**. In : XII Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Caxambú, Brasil. 1985. p. 36-37.

HEWLETT, T. E.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, M. E. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobacco. **Journal of Nematology**. v.20, n.4, p.578-584, 1988.

HUTANGURA, P.; MATHESIUS, U.; JONES, M.G.K.; ROLFE B.G. Auxin induction is a trigger for root gall formation caused by root-knot nematodes in white clover and is associated with the activation of the flavonoid pathway. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v.26, p.221-231, 1999.

JATALA, P. Biology control of nematodes. In: Sasser, J.N. & Carter, C.C. (Eds.) An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. vol. I. Biology and control. Raleigh. North Carolina State University Graphics. 1985. pp.303- 308.

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

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

KERRY, B.R. An assessment of progress toward microbial control of plant parasitic nematode. **Journal of Nematology**. v. 22, n.45, p.621-631, 1990. (Supplement)

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

MIZOBUTSI, E.H.; FERRAZ, S.; RIBEIRO, R. C. F. Avaliação do parasitismo de diversos isolados fúngicos em ovos de *Heterodera glycines* e *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Brasília-DF. v.24, n.2, p.167-172, 2000.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ KÁBANA, R. Phytonematode pathology fungal modes of action. A perspective. **Nematropica**. v.15, p.107-14, 1985.

NOVARETTI, W. R. T.; DINARDO-MIRANDA, L. L.; TOTINO, L. C.; STRABELLI, J. Efeito da aplicação conjunta do fungo *Paecilomyces lilacinus* e do nematicida Furadan 5 G no controle de nematóides em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba. v.10, p.133-144, 1986.

SANTIAGO, D. C.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F. V.; RIBEIRO, E. R.; GOMES, B. C.; SANTORO, P. H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. **Ciência Rural**. Santa Maria. v. 36, n. 4, p. 1055-1064, 2006.

STIRLING G.R. **Biological control of plant parasitic nematodes.** (Eds.). Wallingford: CAB International, 1991. 282p.

SOSA-GOMEZ, D.R. **Fungos entomopatogênicos: catálogo de isolados.** (Eds.). Londrina: Embrapa Soja, 2002. v.1, p.1-32. (Série Documentos).

4 CONCLUSÕES GERAIS

Isolados do fungo *Paecilomyces lilacinus* Pae 03, 12 , 20 foram considerados os melhores para o controle de *M. paranaensis* no experimento I e no experimento II, os isolados Pae 18 e 22 foram os que apresentaram os melhores resultados para o controle de *M. paranaensis* no cultivo de cafeeiro em casa-de-vegetação, pois reduziram a população dos nematóides no solo, na raíz e apresentaram uma elevada taxa de sobrevivência, características desejáveis para um agente de biocontrole.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by nematodes. In: GEORGE, N. AGRIOS, F.N. (Ed.). **Plant Pathology**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.565-597.
- AL-HAZMI, A. S.; SCHIMITT, D. P.; SASSER, J. N. The effect of *Arthrobotrys conoides* on *Meloidogyne incognita* populations densities in corn as influenced by temperature, fungus inoculum density and of fungus introduction in the soil. **Journal of Nematology**, DcLcon Springs. v.14. n.2. p.168-174. 1982.
- ALVES, F. R.; CAMPOS, V. P. Efeitos da temperatura sobre a atividade de fungos no controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *M. incógnita* raça 3. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras. v.27. n.1. p.91-97, 2003.
- ANDREEVA, N. A.; USHAKOVA, V. L.; EGOROV, N. S. Study of proteolytic enzymes of different strains of *Penicillium lilacinum* (Thom.) in connection with their fibrinolytic activity. **Microbiology**. v.41, p.364-368, 1972.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO CAFÉ: 2001/2002 Statistic coffee yearbook: 2001/2002. Rio de Janeiro: Coffee business, 2002. 82p.
- ARAI, T.; MIKAMI, Y.; FUKUSHIMA, K.; UTSUMI, T.; YAZAWA, K. A new antibiotic leucinostatin derived from *Penicillium lilacinum*. **Journal of Antibiotics**. v.26, p.157-61, 1973.
- ARRUDA, H. V. de. Redução no crescimento de cafeeiro com um ano de campo, devido ao parasitismo de nematóides. Nome do Periódico. *Bragantia*, v.19, p.179-82, 1960.
- BRIAN, P. W.; HEMMING, H. G. Production of antifungal and antibacterial substances by fungi, preliminary examination of 166 strains of fungi imperfecti. **Journal of General Microbiology**. v.1, p.158-67, 1947.
- CAMPOS, V. P., SIVAPALAN, P.; GNANAPRAGASAM, N. C. Nematode parasites of coffee, cocoa, and tea. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. (eds.). London: Cab International. 1990. p.113-126.
- CANDANEDO, E.; JATALA, P.; GONZALES, F. Control biológico del nematodo *Meloidoguyne incógnita* com el hongo *Paecilomyces lilacinus*. In: **Abstracts of Proceedings**. Society of Caribbean, Caribbean, 1983. p.354.

CARNEIRO, R. M. D. G. 1986. Etude des Possibilités D'utilisation du Champignon Nematophage *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom, 1974, Comme Agent de Lutte Biologique contre *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889), Chitwood, 1949. (Tese de Doutorado). 119p. Academie de Montpellier. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. France.

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

CARNEIRO, R.G. Fitonematóides na cafeicultura paranaense: Situação atual. Resumos do XVII Congresso Brasileiro de Nematologia. Jaboticabal, SP, Brasil. Fevereiro, 1993.

CARNEIRO, R. G.; CARNEIRO, R. M. D. G. Levantamento preliminar dos nematóides do gênero *Meloidogyne* associados à cultura do café do norte do Paraná, no período de 1978 a 1980. **Nematologia Brasileira**. v.6, p.33-139. 1982.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CAYROL, J. C. Relationship between inoculum density of the nematophagus fungus *Paecilomyces lilacinus* and control of *Meloidogyne arenaria* on tomato. **Revue Nematologie**. v.14, n.4, p.629-634, 1991.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Metodologia e teste de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.7, n.1, p.66-75, 1993.

CARNEIRO, R. M. D. G.; KULCZYNSKI, S. M. Metodologia de produção de conídios para diferentes isolados de *Paecilomyces* spp. em arroz. **Nematologia Brasileira**. v.17, p.98-101, 1993.

CARNEIRO, R. M. D. G., CARNEIRO, R. G., ABRANTES, I. M. O., SANTOS, M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a Root-Knot Nematode Parasitizing Coffee in Brazil. **Journal of Nematology**. v.28, n.2. p.177-189, 1996.

COIMBRA, J. L.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, R. M. de. Isolamento e parasitismo de fungos de fêmeas de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne exigua*. v.23, n.1, p.25-33, 1999.

COSTA, S. B.; CAMPOS, V. P. Obtenção de fêmeas de *Heterodera glycines* em hidroponia e testes de patogenicidade de fungos isolados de cistos de *H. glycines* e de *Meloidogyne* spp. **Summa Phytopathologica**. v.23, p.239-243, 1997.

COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; PFENNING, L. F.; OLIVEIRA, D. F. Patogenicidade e Reprodução de *Meloidogyne incognita* em Tomateiros (*Lycopersicon esculentum*) com a Aplicação de Filtrados Fúngicos ou Extratos de Plantas e de Esterco Animais. **Nematologia Brasileira**. v.24. n.2, p.219-226. 2000.

DAVIDE, R. G. Nematode problems affecting agriculture in the Philippines. **Journal of Nematology**. v.20, n.2, p.214-218, 1988.

DEVRAJAN, K.; RAJENDRAN, G. Effect of the fungus, *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Sanson on the burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne in Banana. **Pest Management in Horticultural Ecosystems**. v.7, n.2, p.171-173, 2001.

DEVRAJAN, K.; SEENIVASAN, N. Biochemical changes in banana roots due to *Meloidogyne incognita* infected with *Paecilomyces lilacinus*. **Current Nematology**. v.13, n.1. p.1-5, 2002.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W. **Compendium of soil fungi**. (Eds.). New York: Academic Press, 1980. 859p.

DUCAN, B. Nutrition and fat production in submerged cultures of a strain of *Penicillium lilacinum*. **Mycologia**. v.65, p.4-211, 1973.

DUNCAN, L. W. Current options for nematode management. **Annual Review of Phytopathology**. v.29, p.469-490, 1991.

DUNN, M. T.; SAYRE, M. R.; CARREL, A.; WERGIN, P. 1982. Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom as observed with scanning electron microscope. SEM/1982/III. Scanning Electron Microscopy, Inc., Chigaco. p.1351-1357.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W. R. **Manual of Agricultural Nematology Marcel Dekker**. (Ed.). Inc. New York. 1991. p.191-274.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). **Journal of Nematology**. v.17, p.6-20, 1985.

FERRAZ, S. Summary Report on the Current Status, Progress and Needs for *Meloidogyne* Research in Brazil. (Region III). In: SOBRENOME. **Ann Advanced Treatise on**

Meloidogyne. (eds.). Raleigh, NC – USA: North Carolina State University, 1985, v.1, p.351-352.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In. SILVA, J. F. V.; MAZAFERRA, P.; CARNEIRO, R. G.; ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidogines da soja**. (Eds.). Londrina: Embrapa Soja: Sociedade de Nematologia, 2001. 127p.

FIORETTO, A.M.C.; VILLACORTA, A. Exigências térmicas para o desenvolvimento do fungo nematófago *Paecilomyces lilacinus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, n.8, p.975-978, 1981.

FITTERS, P. F. L.; GAMS, W.; DEN BELDER, E. D. A time lapse technique to study the effect of fungal products on embryogenesis of nematode eggs. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwetenschappen**. v.58, n.2, p.751-756, 1993.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 12 abril 2004.

FREIRE, F.C.O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, n.3, p.577-596, 1985.

FREITAS, L.G. et al. Effectiveness of different isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**. Louisiana, v.25, n.2, p.109-115, 1995.

FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; ALMEIDA, A. M. S. Controle de *Meloidogynes javanica* em tomateiro pela produção de mudas e substrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. **Nematologia Brasileira**. v.23, n.1, p.65-71. 1999.

GASPARD, J. T.; MANKAU, R. Targeting root-knot nematode developmental stages with fungae antagonists. **Phytopathology**. v.75, p.1344, 1985.

GODOY, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G. Parasitismo of eggs of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne arenaria* by fungi isolated from cysts of *H. glycines*. **Nematropica**. v.12, p.111-119, 1982.

GODOY, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G. Fungal parasites of *Meloidogyne arenaria* eggs in Alabama soil. A mycological survey and greenhouse studies. **Nematropica**. v.13, p.207-13. 1983.

HEWLETT, T.E. et al. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobacco. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.20, n. 4, p.578-584, 1988.

JATALA, P.; KALTENBACH, R.; BOCANGEL, M. Biological control of *Meloidogyne incognita acrita* and *Globodera pallida* on potatoes. **Journal of Nematology**. v.11, p.303, 1979.

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

JATALA, P.; SALAS, R.; KAELTENBACH, M.; BOCANGEL, D. A. J. Multiple application and long-term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under fields conditions. **Journal of Nematology**. p.13-445. 1981.

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

KAUR, D. J.; MAHAJAN, R. Effect of two temperature regimes on the expression of resistance to *Meloidogyne incognita* in resistant tomato cultivars. **Nematologia Mediterránea**, Bari. v.20. n.2. p.221-222. 1992.

KERRY, B. R. Biological Control. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (Eds.). **Principles and practice of nematodes control in crops**. London: Academic Press. 1987. p.223-263.

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

KORAB, J. J. Results of a study of the nematode *Heterodera schachtii* at the nematode laboratory of the Belaya Tserkov Research Station. *Sbornik sartovogo, semenovod Kogo upr*, v.8, p.29-67, 1929.

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

LAY, E. C.; LARA, J.; JATALA, P.; GONZALES, F. Preliminary evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biological control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in industrial tomatoes. **Nematropica**. v. 12, p. 154. 1982.

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8 ed. São Paulo: Nobel, 1984. 314p.

LORDELLO, L. G. E., CARNEIRO FILHO, I., REBEL, E. K., GUIDOLIN, J. A.;
LORDELLO, R. R. A. Identificação de nematóides em cafezais do estado do Paraná.
Nematologia Brasileira. v.1, p.16-24, 1974.

MAIA, A. S.; SANTOS, J. M.; DI MAURO, A. O. Estudo *in vitro* da habilidade predatória de *Minacrosporium robustum* sobre *Heterodera glycines*. **Fitopatologia brasileira**, local. v.24, n.4, p.732-736, 2001.

MARCHISIO, V. F.; COLLA, A. Su alcuni micromicetis ad attivita antibiotica di un terreno agrario. *Allionia*. v.18, p.97-102, 1972.

MERT, H. H.; DIZBAY, M. The effect of osmotic pressure and salinity of the medium on the growth and sporulation of *Aspergillus niger* and *Paecilomyces lilacinus* species.
Mycopathologia. v.1, p125-127, 1977.

MIZOBUTSI, E. H.; FERRAZ, S.; RIBEIRO, R. C. F. Avaliação do parasitismo de diversos isolados fúngicos em ovos de *Heterodera glycines* e *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.24, n.2, p.167-172, 2000.

MORGAN-JONES, G.; WHITE, J. F.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Phytonematode pathology: ultrastructural studies, II parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs and larvae by *Paecilomyces lilacinus*. **Nematropica**. v.14, p.57-71, 1984.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Phytonematode pathology fungal modes of action. A perspective. **Nematropica**. v.15, p.107-14, 1985.

NOE, J. P.; SASSER, J. N. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* in reducing yield loss due to *Meloidogyne incognita*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEMATOLOGY, 1 eds., Guelph, Canada. (Abstracts). 1984. p.69-70.

NOLING, J. W.; BECKER, J. O. The challenge of reaserch and extension to define and implement alternatives to methyl bromide. **Supplement to the Journal of Nematology**. v.26. n.4, p.573-586, 1994.

NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagous fungi: strategies for nematode exploitation and for survival. **Microbiological Sciences**. v.5, p.108-114, 1968.

NOVARETTI, W.R.T. et al. Efeito da aplicação conjunta do fungo *Paecilomyces lilacinus* e do nematicida Furadan 5 G no controle de nematóides em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.10, p.133-144, 1986.

OKAFOR, N. Decomposition of chitin by microorganisms isolated from a temperate and tropical soil. *Periódico, Nova Hedwigia*. v.13, p.209-26, 1967.

PHILIPS, E.; WALKER, T. K. Mycological formation of fat 5 factors with influence the formation of fat surface cultures of *Penicillium lilacinum* (Thom). **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.9, p.223-237, 1958.

PIMENTEL, I. C. Estudos Genéticos em *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson, Agente de Controle Biológico de Nematóides. (Dissertação). ESALQ. Piracicaba. 1991. 115p.

PITT, J. I. An appraisal of identification methode for *Penicillium* especies movel taxonomic criteria based on temperature and water relations. **Mycologia**. v.65, p.1135-1137, 1973.

RADEMACHER, B.; SCHMIDT, O. Die bisherigen Erfahrungen in der Bekämpfung des Rubennematoden (*Heterodera schachtii*) SCHN auf dem Wege der Reizbeeinflussung. **Archiv Pflanzenb**, Berlin. v.10, p.237-296, 1933.

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

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo Integrado de Nematóides na Cultura da Bananeira. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 2, p. 331-338, Agosto 2006.

RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G.; OWNLEY GINTIS, B. Effect of chitin amendmets to soil on *Heterodera glycines*, microbial ppopulations and colonization of cysts by fungi. **Nematropica**. v.4, p.10-25, 1984.

ROZYSPAL, J. Houby na had atky repnem *Heterodera schachtii*. Schmidt v. Morovskych pudah. **Vestník Ceskoslovenske Akademie zemedelské**, Prague. v.10, p.412-422, 1934.

SAMSOM, R.A. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. **Studies in Micology**. v.6, p.1-119. 1974.

SANTIAGO, D. C.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F. V.; RIBEIRO, E. R.; GOMES, B. C.; SANTORO, P. H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. **Ciência Rural**. Santa Maria. v. 36, n. 4, p. 1055-1064, 2006.

SANTOS, J. M.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Determinação dos fenótipos isoenzimáticos e estudos comparativos da morfologia de 88 populações de *Meloidogyne* spp., parasitas do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**. v.16, p.88 (Resumos). 1992.

SASSER, J. N. Economic importance of *Meloidogyne* in Tropical countries. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C. E. (Eds.). **Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Systematics, biology and control. 1979. p.359-374.

SILVA, J. F. V.; PIZZA, S.; CARNEIRO, R. Ocorrência de *Paecilomyces lilacinus* parasitando ovos de *Meloidogyne* sp. Em amora no noroeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**. v.16, p.84, 1992.

SOUZA, R. M. ; FERRARI, W. A. . Ocorrência de *Paecilomyces lilacinus* parasitando fêmeas de *Meloidogyne javanica* em *Acacia mangium* e *M. incognita* em *Ottonia* sp.. In: XIII Congresso Brasileiro de Nematologia, 1989, Maceió. Resumos, 1989. p. 24-2

STIRLING, G.R.; WEST, L.M. Fungal Parasites of Root-Knot Nematode Eggs From Tropical and Sub-Tropical Regions of Australia. **Australasian Plant Pathology**. Australia, v.20, n.4, p.149-154, 1991.

STIRLING, A. M.; STIRLING, G. R.; MACRAE, I. C. Microbial degradation of fenamiphos after repeated application to tomato-growing soil. **Nematologica**. v.39, p.245-254. 1992.

THOMASON, I. J. Challenges facing nematology: Enviromental risks with nematicides and the need for new approaches. In: VEECH, J. A. & DICKSON, D. W. (Eds.). **Vistas on Nematology**, Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p.469-476

TIGANO-MILANI, M. S.; FARIA, M. R. de; MARTINS, I.; LECUONA, R. E. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Paecilomyces* sp. em solos de diferentes regiões do Brasil. v. 22, n.2, p. 391-393, 1993.

TRESNER, H. D.; HAYES, J. A. Sodium chloride tolerant of terrestrial fungi. **Applied Microbiology**. v. 22, p. 210-215. 1971.

VAN DER LANN, P. A. Een schimmel als parasite nam de cysteïnhoud van het aardappelcystenaaltje (*Heterodera rostochiensis* Wollenw). **Tijdschrift voor planteziekten**. v.59, p.101-113, 1956.

YAMANO, T. Lilacinin. Japan Patent. 1971.