

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JOSÉ AUGUSTO DIAS NETO

ASSOCIAÇÃO E COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS E OS FUNGOS
***Trichoderma harzianum* E *Paecilomyces lilacinus* NO MANEJO DE**
FITONEMATÓIDES NA CULTURA DA SOJA

CHAPADÃO DO SUL – MS
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JOSÉ AUGUSTO DIAS NETO

ASSOCIAÇÃO E COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS E OS FUNGOS
***Trichoderma harzianum* E *Paecilomyces lilacinus* NO MANEJO DE**
FITONEMATÓIDES NA CULTURA DA SOJA

Orientadora: Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, para obtenção do
título de Mestre em Agronomia, área
de concentração: Produção Vegetal.

CHAPADÃO DO SUL – MS
2014



Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Câmpus de Chapadão do Sul

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

DISCENTE: José Augusto Dias Neto
ORIENTADOR (A): Prof. (a) Dr. (a) Elisângela de Souza Loureiro

**ASSOCIAÇÃO E COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS QUÍMICOS E OS
FUNGOS TRICHODERMA HARZIANUM E PAECILOMYCES LILACINUS
NO MANEJO DE FITONEMATÓIDES NA CULTURA DA SOJA**

Prof. (a) Dr. (a) Presidente Elisângela de Souza Loureiro

Prof. (a) Dr. (a) Luis Gustavo Amorim Pessoa

Prof. (a) Dr. (a) Luciana Cláudia Toscano Maruyama

Chapadão do Sul, 10 de março de 2014.

A minha esposa Jucimara Nogueira dos Santos, ao meu filho Enzo Nogueira Dias, aos meus pais, irmãos, sobrinhos, amigos e pastores, pelos momentos de compreensão, convívio, amizade, respeito e amor incondicional compartilhados.

Aos meus colegas da turma e professores do Mestrado, pelos ensinamentos, apoio, incentivo e companheirismo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por ter me concedido o dom da vida, do amor e da paz e me fazer saber que tudo é possível ao que crê, e que pela fé tenho certeza e convicção das coisas que espero no Senhor.

A Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, em especial aos professores e funcionários, pela a oportunidade oferecida no Programa de Pós-Graduação, no curso de mestrado em Agronomia.

A Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro, minha orientadora, pelo incentivo, confiança, apoio, amizade, auxílio nos experimentos e correções da dissertação.

Ao Prof. Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa, mesmo não sendo co-orientador, não hesitou ajudar nos experimentos e nas sugestões de como realizá-los.

Aos membros da Banca examinadora pelas correções e considerações feitas e por estarem presente neste momento importante da minha formação.

A minha esposa e ao meu filho por estarem sempre ao meu lado dividindo todos os momentos, quer sejam bons, ou difíceis de nossas vidas, e me incentivarem nesta nova etapa da formação profissional.

Aos graduandos, mestrandos, técnicos que fazem parte do Laboratório de Entomologia e pela compreensão, e auxílio nos trabalhos, em especial ao técnico do Laboratório de Entomologia, Biólogo Frederico Nakasone Ferreira, e ao Futuro Engenheiro Agrônomo e irmão na fé Muller de Paula pelo auxílio nas avaliações e montagem dos experimentos.

A Ballagro Agro Tecnologia Ltda, pela cessão dos isolados dos fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus*, e sua equipe por terem me incentivado a buscar o conhecimento e melhorias e assim desenvolver o projeto Integração da Ballagro.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

EPÍGRAFE

"JAMAIS CONSIDERE SEUS ESTUDOS COMO UMA OBRIGAÇÃO, MAS COMO UMA OPORTUNIDADE INVEJÁVEL PARA APRENDER A CONHECER A INFLUÊNCIA LIBERTADORA DA BELEZA DO REINO DO ESPÍRITO, PARA O SEU PRÓPRIO PRAZER PESSOAL E PARA PROVEITO DA COMUNIDADE A QUAL O SEU FUTURO TRABALHO PERTENCER."

Albert Einstein

RESUMO

DIAS NETO, José Augusto. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
Título da Dissertação. Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematóides na cultura da soja
Professor Orientador: Elisângela de Souza Loureiro.

Os fitonematóides causam grandes prejuízos à agricultura, podendo até inviabilizar os cultivos dentro de áreas infestadas, as práticas de manejo são fundamentais para a convivência com este tipo de problema. O controle biológico assume um papel muito importante dentro destas práticas de manejo, com atuação direta sobre os patógenos no solo. Os fungos encontrados na rizosfera e no solo como *Trichoderma harzianum* (Rifai) e *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom são importantes antagonistas contra doenças radiculares e nematóides fitopatogênicos. Os objetivos do trabalho foram identificar quais as espécies de fitonematóides que ocorrem na cultura da soja e avaliar a eficiência dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus* no controle de fitonematóides na cultura da soja, na região de Chapadão do Sul-MS, além de testar a compatibilidade dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus*, com alguns produtos fitossanitários químicos usualmente utilizados no tratamento de sementes em plantios comerciais de soja. O delineamento experimental foi de blocos casualizados com quatro repetições, constituindo de seis tratamentos para o trabalho de eficiência e identificação dos nematóides, foram testados os produtos químicos Avicta[®] (nematicida e inseticida), Cruiser[®] (inseticida), Maxim XL[®] (fungicida), ambos em suas doses recomendadas. Os testes de compatibilidade foram realizados *in vitro*, avaliando-se as variações do crescimento vegetativo, a esporulação e a germinação dos conídios em relação à testemunha. Os produtos químicos Avicta[®], Cruiser[®] e Maxim XL[®], permitiram o crescimento de colônias dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus*. Os produtos Avicta[®], Cruiser[®] e Maxim XL[®] foram classificados através do índice biológico como compatíveis ao fungo *T. harzianum*. Com relação ao fungo *P. lilacinus*, os produtos Cruiser[®] e Maxim XL[®] foram classificados como compatíveis, porém o produto químico Avicta[®] foi classificado como moderadamente tóxico, sendo que este produto químico pode ter algum efeito sobre o fungo *P. lilacinus*. Na Safra 2011/12, aos 32 e 60 dias após a emergência o tratamento com *P. lilacinus* em número absoluto apresentou os menores índices de nematóides nas raízes e no solo. A análise dos números absolutos mostrou uma maior produtividade para o tratamento com *P. lilacinus*. A menor produtividade foi verificada no tratamento Avicta[®]+*P. lilacinus*+*T. harzianum*. A associação de *P. lilacinus* com Avicta[®]+Cruiser[®]+Maxim XL[®] e com Avicta[®]+Cruiser[®]+Maxim[®]+*T. harzianum*, conferiu a estes tratamentos as menores produtividades. Na safra 2012/13, as análises dos números absolutos mostraram uma maior produtividade para o tratamento com *P. lilacinus* + *T. harzianum*. A aplicação sequencial, durante as safras 2011/12 e 2012/13 de *P. lilacinus* isoladamente e *P. lilacinus*+ *T. harzianum*, reduziram as populações de nematóides *P. brachyurus* e *H. glycines*, comprovando a presença dos fungos mesmo no tratamento testemunha, aos quais apresentaram redução da população de nematóides, devido ao crescimento da atividade biológica desses fungos no solo.

PALAVRAS-CHAVE: Fitonematóides. Controle biológico. Compatibilidade

ABSTRACT

DIAS NETO, José Augusto. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Título da Dissertação. Association and compatibility of chemicals and fungi *Trichoderma harzianum* and *Paecilomyces lilacinus* in management of nematodes in soybean.

Author: José Augusto Dias Neto.

Adviser: Elisângela de Souza Loureiro.

The nematodes cause major damage to agriculture and could even cripple crops in infested areas, management practices are key to coping with this kind of problems. Biological control plays a very important role within these management practices, with a direct influence on the pathogens in the soil. The fungi found in the soil and rhizosphere as *Trichoderma harzianum* (Rifai) and *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samsom are important antagonists against pathogenic nematodes and root diseases. The objectives were to identify which species of nematodes that occur in soybeans, evaluate the efficiency of the fungi *T. harzianum* and *P. lilacinus* in the control of nematodes in soybean, in the region of Chapadão do Sul- MS, besides testing. Reconciling the fungi *T. harzianum* and *P. lilacinus*, with some chemical products commonly used in seed treatment in commercial crop of soybeans. The experimental design was randomized blocks with four replicates, making six treatments for work efficiency and identification of nematodes, chemicals Avicta[®] (nematicide and insecticide), Cruiser[®] (insecticide), Maxim XL[®] (fungicide) were tested, both in their recommended doses. The compatibility tests were performed in vitro by evaluating changes in vegetative growth, sporulation and spore germination compared to the control. The Avicta[®], Cruiser[®] and Maxim XL[®], chemicals allowed the growth of colonies of fungi *T. harzianum* and *P. lilacinus*. The Avicta[®], Cruiser[®] and Maxim XL[®] products were classified by biological index as compatible to the fungus *T. harzianum*. With respect to the fungus *P. lilacinus*, the Cruiser[®] and Maxim XL[®] products were classified as compatible, but the chemical Avicta[®] was classified as moderately toxic, and this chemical can have some effect on the fungus *P. lilacinus*. In the season 2011/12, after 32 and 60 days after emergence treatment with *P. lilacinus* in absolute numbers showed the lowest levels of nematodes in the roots and soil. The analysis of absolute numbers showed a higher productivity for treatment with *P. lilacinus*. The lowest yield was observed in the treatment Avicta[®]+*P. lilacinus*+*T. harzianum*. The association of *P. lilacinus* with Avicta[®]+Cruiser[®]+Maxim XL[®] and Maxim XL[®], Avicta[®]+Cruiser[®]+*T. harzianum*, giving these treatments, the lowest yield. In the season 2012/13, the analysis of absolute numbers showed a higher productivity for treatment with *P. lilacinus* + *T. harzianum*. The sequential implementation during the 2011/12 and 2012/13 seasons of *P. lilacinus* isolation and *P. lilacinus* + *T. harzianum* reduced the populations of nematodes *Pratylenchus brachyurus*, proving the presence of fungi even in the control treatment, which decreased the population of nematodes, due to the growth of the biological activity of these fungi in the soil.

KEY-WORDS: Phytopathogenic nematodes. Biological control. Compatibility.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Plantio do ensaio. Chapadão do Sul-MS, safra 2011/12, safra 2012/2013	51
2	Dosagem dos produtos e tratamento das Sementes. Chapadão do Sul-MS, safras 2011/12 e 2012/13.....	52
3	Embalagens e Dosagens dos fungos. Chapadão do Sul-MS	53
4	Placas de Petri contendo colônias de <i>Trichoderma harzianum</i> e <i>Paecilomyces lilacinus</i>	71
5	Meio de cultura (BDA) contendo os produtos Avicta [®] , Cruiser e MaximXL [®] incorporados proporcionalmente ao meio de cultura BDA.....	73
6	Inoculação da suspensão padronizada nas placas.....	75

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Tratamentos e doses utilizadas no controle de Nematoides. Chapadão do Sul-MS.....	50
2	Análise nematológica, ovos e juvenis de <i>Pratylenchus brachyurus</i> presentes no solo, aos 32 /60 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2011/2012.....	55
3	Análise nematológica, ovos e juvenis de <i>Pratylenchus brachyurus</i> presentes nas raízes, aos 32 /60 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2011/2012.....	56
4	Análise nematológica, ovos e juvenis de <i>Pratylenchus brachyurus</i> presentes no solo, aos 36/87 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra e 2012/2013.....	57
5	Análise nematológica, ovos e juvenis de <i>Pratylenchus brachyurus</i> presentes nas raízes, aos 36/87 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2012/2013.....	58
6	Análise nematológica, de <i>Heterodera glycines</i> presentes no solo e nas raízes, aos 32/60 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2011/2012.....	59

7	Análise nematológica, de <i>Heterodera glycines</i> . Presentes no solo e nas raízes, aos 36/87 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2012/2013.....	60
8	Produtividade (sc.ha ⁻¹), de soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safras 2011/12 e 2012/13.....	61
9	Produtos fitossanitários utilizados no tratamento de sementes de soja para o controle de nematoides, insetos e fungos fitopatogênicos na cultura da soja.....	72
10	Número médio de conídios produzidos e germinação por colônia de <i>Trichoderma harzianum</i> (IBFL006) e <i>Paecilomyces lilacinus</i> (PAE 10).....	77
11	Classificação da compatibilidade entre produtos fitossanitários químicos os e os fungos <i>Trichoderma harzianum</i> (IBFL006) e <i>Paecilomyces lilacinus</i> (PAE 10) de acordo com o valor do “IB”.....	78

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Nematoides fitopatogênicos	17
2.1.1 Fitonematoides na cultura da soja.....	18
2.2 Controle Biológico de fitonematoides.....	21
2.2.1 Fungos nematófagos usados no controle de nematoides.....	25
2.3 Compatibilidade de fungos com produtos fitossanitários químicos.....	30
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO 1 - ASSOCIAÇÃO DE PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS NO MANEJO DE FITONEMATOIDES NA CULTURA DA SOJA.	
RESUMO	45
ABSTRACT.....	46
1. INTRODUÇÃO	47
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4. CONCLUSÕES.....	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
CAPÍTULO 2 –EFEITO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS QUÍMICOS SOBRE OS FUNGOS <i>Trichoderma harzianum</i> E <i>Paecilomyces lilacinus</i> .	
RESUMO	67
ABSTRACT.....	68
1.INTRODUÇÃO	69
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	70
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4. CONCLUSÕES	79
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

1. INTRODUÇÃO

Desde a sua introdução a cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill) passou por profundas modificações até ser altamente tecnificada como se tem nos dias atuais. Estima-se que na safra 2013-2014 o Brasil produzirá ao redor de 89,446 milhões de toneladas de soja, com uma expansão da área plantada de 6% atingindo 29, 5 milhões de ha e aproximadamente 194 milhões de toneladas/ha (MAPA, 2014), atualmente é o maior exportador mundial.

O cultivo em solos de Cerrado proporcionou o crescimento em área e rendimento da cultura pelo plantio de variedades adaptadas às condições dessa região brasileira. A região Central assume importância estratégica para o desenvolvimento da cultura no Brasil, contribuindo de forma crescente e determinante para consolidar sua posição alcançada no cenário internacional. O Estado de Mato Grosso do Sul é o quinto maior produtor responsável por 6,1 milhões de toneladas/ha e com uma área plantada de 2 milhões e duzentos mil hectares (FAMASUL, 2014).

Apesar da alta produtividade, nos últimos anos vários fatores têm afetado o crescimento, desenvolvimento e a produtividade da cultura. Dentre estas, as doenças provocadas por fitopatógenos (fungos, nematoides e vírus), têm provocado quedas frequentes na produtividade da soja em todas as regiões produtoras da cultura. No Brasil, os fitonematoides de maior importância são os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp. Chitwood), o de cisto (*Heterodera glycines* Ichinohe), o reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford; Oliveira) e o *Pratylenchus brachyurus* Filipveij; Schuurmans Stekhoveme, conhecido como "nematóide das lesões radiculares", e representa, atualmente, problema para os diversos sistemas de produção, causando perdas econômicas significativas e impacto econômico para várias culturas agrícolas.

Os fitonematoides podem inviabilizar os cultivos dentro de áreas infestadas, prejudicando as plantas devido a sua ação nociva sobre o sistema radicular, que por sua vez, afeta a absorção e a translocação de água e nutrientes, afetando a fisiologia e nutrição das plantas. Além disso, estes organismos predispõem as plantas ao ataque de doenças (fungos fitopatogênicos) e a suscetibilidade há estresses ambientais.

No Estado do Mato Grosso do Sul, análises de solo e raízes, frequentemente, são encontradas populações de *P. brachyurus* extremamente elevadas, causando reduções de produtividade. Geralmente os sintomas aparecem em reboleiras onde o porte das plantas é menor que o normal (DIAS et al., 2009). Estes organismos alimentam-se e reproduzem-se em plantas vivas, podendo migrar para a região rizosférica, para dentro das raízes, ou em direção à parte aérea.

O seu manejo é muito difícil e oneroso, devido a hábitos, potencial de sobrevivência no solo, variabilidade de espécies, inter-relações entre diferentes patógenos (fungos e nematoides). Práticas de manejo são fundamentais para a convivência com este tipo de problemas, os quais devem incluir sementes de boa qualidade e sanidade, rotação de culturas, cultivares resistentes, cobertura do solo, plantas antagonistas, controle biológico e controle químico.

Atualmente, o controle químico é uma medida que vem sendo adotada para minimizar os danos causados pelos nematoides das plantas cultivadas, porém devido ao impacto ambiental, baixa eficiência e alto custo desta medida de controle tornam-se necessário estudar alternativas de controle, a fim de reduzir os prejuízos causados (FERRAZ; SANTOS, 1995). A pressão da sociedade no sentido de substituir os nematicidas por produtos ou técnicas ecologicamente mais recomendadas tem incentivado a busca de métodos alternativos para o controle de fitonematoides.

O componente biológico do ecossistema solo é particularmente importante em limitar ou estabilizar as populações de nematoides, através de mecanismos de competição, parasitismo, predação e produção de compostos tóxicos (FERRAZ et al., 2012). O controle biológico apresenta uma série de vantagens em relação ao químico, pois não contamina, não desequilibra o meio ambiente, e nem deixa resíduos, além de ser barato e de fácil aplicação (SOARES, 2006). Uma grande quantidade de organismos são capazes de repelir, inibir ou mesmo levar a morte dos fitonematoides.

O controle biológico assume um papel muito importante dentro destas práticas de manejo, com atuação direta sobre os patógenos no solo, com a utilização de diversos micro-organismos antagonistas, como o uso das bactérias e os fungos *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma* spp., *Monacrosporium* sp. e *Arthrobotrys* sp. Fungos como o *T. harzianum* (Rifai) e o *P. lilacinus* (Thom.) Samsom, são

importantes antagonistas no solo contra doenças radiculares e nematoides fitopatogênicos.

Santin (2008) supõe que isolados de *Trichoderma* sp. e o *P. lilacinus*, apresentam mecanismos de ação que podem ser usados efetivamente no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne*, causadores de galhas. Ainda segundo esse autor uso consorciado destes micro-organismos pode ser eficientes no controle de nematoides de galhas. Nunes (2008) relataram que os isolados de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus* foram patogênicos para ovos de *M. incognita* e *H. glycines* em condições de casa-de-vegetação.

A conservação e a utilização de agentes de controle biológico dentro dos agroecossistemas é uma das principais estratégias adotadas no manejo integrado de pragas e doenças. Em ambos os casos deve-se conhecer a ação dos produtos fitossanitários de origem química sobre os microrganismos entomopatogênicos e em seguida determinar sua compatibilidade. O controle integrado, com a utilização de produtos fitossanitários seletivos desde inseticidas, herbicidas e fungicidas em conjunto com os fungos entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico, pode ser uma estratégia segura e eficiente (LOUREIRO et al., 2002).

A procura de alternativas para o controle de nematoides se intensificou nos últimos anos e o uso do controle biológico vem sendo considerado uma ferramenta a mais que pode proporcionar a redução da população desses organismos para o nível abaixo do dano econômico. Contudo é muito importante sempre realizar um manejo visando o controle das doenças radiculares e dos fitonematoides. Devido as suas características os fungos *Trichoderma* sp. e *P. lilacinus* podem se complementar formando uma proteção ao sistema radicular e de redução de fungos e nematoides no solo, se encaixando perfeitamente junto a outras estratégias de manejo.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos: identificar quais as espécies de fitonematoides que ocorrem na cultura da soja, avaliar a eficiência dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus* no controle de fitonematoides na cultura da soja, na região de Chapadão do Sul-MS, além, de testar a compatibilidade dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus*, com alguns produtos fitossanitários químicos usualmente utilizados no tratamento de sementes em plantios comerciais de soja.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Nematoides fitopatogênicos

Dentre os grandes grupos de nematoides estão os fitonematoides, ou nematoides parasitas de plantas que causam perdas econômicas significativas em uma grande variedade de culturas. Estes organismos alimentam-se e reproduzem-se em plantas vivas, podendo migrar para a região rizosférica, para dentro das raízes, ou em direção à parte aérea. Em 1987, Sasser e Freckman já havia estimado, perdas mundiais causadas por nematoides variando de 8 a 20%, com valor anual de 87 bilhões de dólares.

Os fitonematoides causam grandes prejuízos à agricultura, podendo até inviabilizar os cultivos dentro de áreas infestadas, prejudicando as plantas devido a sua ação nociva sobre o sistema radicular, que por sua vez, afetam a absorção e a translocação de água e nutrientes, afetando a fisiologia e nutrição das plantas. Além disso, estes organismos predis põem as plantas ao ataque de doenças (fungos fitopatogênicos) e a estresses ambientais.

Os nematoides são ovovivíparos e tem o ciclo de vida relativamente simples constituído por ovo, quatro estágios larvais ou juvenis e um estágio adulto. Os ovos quando depositados pelas fêmeas contém larvas completamente formadas. O termo larva é empregado para designar os nematoides jovens, os quais apresentam todos os órgãos dos adultos, exceto órgãos reprodutores (LORDELLO, 1992).

Durante o desenvolvimento da larva ocorre quatro trocas de cutículas ou ecdises, sendo o período entre duas trocas seguidas chamados de fases ou estágios larvais. Com a quarta ecdise, termina o quarto estágio larval, ingressando o nematoide na fase adulta. Durante a vida larval, os nematoides apenas aumentam de tamanho e desenvolvem órgãos reprodutores. No estágio adulto os nematoides adquirem variações de forma, enquanto no estágio juvenil, são tipicamente vermiformes, com corpo longo, fino e cilíndrico. A duração de cada estágio do ciclo de vida dos nematoides parasitas de plantas varia conforme o gênero e espécie, e sofre grande influência da temperatura, Aquelas inferiores a 5°C e superiores a 40°C podem ser letais aos nematoides (LORDELLO, 1992).

Os nematoides podem ser endoparasitas ou ectoparasitas. Os endoparasitas podem penetrar no vegetal na fase de larvas e não sair mais, instalando-se

definitivamente nos tecidos, sendo parasitas sedentários, como os do gênero *Meloidogyne*. Outros penetram no vegetal e podem voltar ao solo, caso as condições do ambiente tornem-se desfavoráveis a ele, atuando como parasitas migradores, como aqueles do gênero *Pratylenchus* (LORDELLO, 1992). Os ectoparasitas não penetram no tecido da planta, se alimentam de fora e raramente são vistos dentro dos tecidos. Alguns migram de uma raiz já necrosada para outra sadia para continuar se alimentando. São os chamados ectoparasitas migradores: *Helicotylenchus* spp e *Xiphinema* spp.

2.1.1. Fitonematoides na cultura da soja

Dentre os nematoides-chave na cultura da soja encontram-se os nematoides de galha *M. incognita* e *M. javanica* (Treub) Chitwood e, principalmente, o nematoide do cisto da soja (NCS) *H. glycines*. Segundo a Embrapa (2010), mais de 100 espécies de nematoides, envolvendo cerca de 50 gêneros, foram associadas a cultivos de soja em todo o mundo. Entretanto, no Brasil, os nematoides mais prejudiciais à cultura têm sido os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.), o de cisto (*H. glycines*), o das lesões radiculares (*P. brachyurus*) e o reniforme (*Rotylenchulus reniformis*), este último sendo comum em lavouras cultivadas após a cultura do algodão.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. possuem ampla distribuição geográfica e representam um dos principais problemas para a cultura da soja. Formam estruturas denominadas galhas no sistema radicular da planta interrompendo os vasos condutores (xilema e floema) ocasionando murcha das plantas durante os períodos mais quentes do dia, menor desenvolvimento das plantas, desfolha prematura, sintomas de deficiência mineral, clorose, redução e deformação do sistema radicular, decréscimo da eficiência das raízes em absorver e translocar água e nutrientes e menor crescimento da parte aérea, culminando com menor produção, comprometendo ou até mesmo inviabilizando o cultivo em áreas com infestações mais severas (TIHOHOD, 2000). *M. incognita* geralmente é um sério problema em áreas cultivadas anteriormente com algodão ou café.

O fitonematoide *H. glycines* (NCS) é um dos principais agentes que limitam a produção de soja no mundo. Até 1992, esta espécie não havia sido detectada no

Brasil parasitando a cultura da soja. Até então, nenhuma variedade comercial possuía resistência ao NCS. A partir desta data, o NCS dispersou rapidamente para os principais estados produtores de soja, devido a facilidade de agregação às sementes, aos implementos agrícolas, por pássaros, pelos ventos, pelo homem e outros meios (SILVA et al., 2006). *H. glycines* tem sido relatado como um nematoide que causa sérios problemas para a cultura da soja.

A ocorrência do nematoide das lesões radiculares, *P. brachyurus* na cultura da soja, tem aumentado nas últimas safras na região Centro Oeste do Brasil, segundo relatos de Dias et al. (2007); Rocha et al. (2008); Andrade et al. (2009) e Ribeiro et al. (2009). Acredita-se que isso venha ocorrendo devido, principalmente, à adoção do sistema de plantio direto (SPD). Neste sistema ocorre maior deposição de palhadas, conservando a umidade dos solos e favorecendo o aumento populacional dos fitonematoides polífagos como *Pratylenchus* sp. A palhada deixada sobre a superfície do solo altera o microclima e influencia diretamente os processos biológicos que ocorrem neste ambiente (Fernandes, 1997).

Nas camadas superiores do solo, é encontrada maior quantidade de microrganismos em função da maior concentração de palha e da elevada concentração de C/N quando comparada ao plantio convencional (ALMEIDA, 1985). Além disso, as culturas são, temporalmente, muito próximas uma das outras, pois além da cultura de verão, cultivam-se outras de outono-inverno ou inverno-primavera, geralmente, milho safrinha ou uma cobertura vegetal. Essa característica favorece o aumento populacional dos fitonematoides polífagos existentes no solo, caso de *Pratylenchus* sp., ao qual a maioria das plantas cultivadas, tanto as de verão como as de inverno, são geralmente suscetíveis, resultando em seu aumento populacional (INOMOTO et al., 2006; INOMOTO et al., 2007).

O nematoide das lesões radiculares é amplamente disseminado no Brasil. No caso da soja, especialmente no Brasil Central, as perdas têm aumentado muito nas últimas safras. O nematoide foi beneficiado por mudanças no sistema de produção e também a incorporação de áreas com solos de textura arenosa (<15% de argila) aumentou a vulnerabilidade da cultura. Embora a intensidade dos sintomas apresentados pelas lavouras de soja atacadas por *P. brachyurus* seja dependente de alguns fatores, como a textura do solo, em geral o que chama a atenção é a presença, ao acaso, de reboleiras onde as plantas ficam menores, mas continuam verdes. Isso se deve ao ataque às células do parênquima cortical, onde o patógeno

injeta toxinas durante o processo de alimentação. A movimentação do nematoide na raiz também desorganiza e destrói células (DIAS et al., 2011).

Na região Centro-Oeste do Brasil, em condições de populações muito elevadas do nematoide no solo, especialmente se associadas com excesso de calagem, as perdas devido ao nematoide de cisto chegam a 100%. Mesmo em lavouras de soja sem sintomas aparentes de danos, como acontece nos estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul, as produtividades de cultivares suscetíveis têm sido, em média, 400 Kg/ha menores do que as de cultivares resistentes.

No Estado do Mato Grosso do Sul, análises de solo e raízes, frequentemente, são encontradas populações de *P. brachyurus* extremamente elevadas, causando reduções de produtividade. Geralmente os sintomas aparecem em reboleiras onde o porte das plantas é menor que o normal (DIAS et al., 2009). Estes organismos alimentam-se e reproduzem-se em plantas vivas, podendo migrar para a região rizosférica, para dentro das raízes, ou em direção à parte aérea.

A reprodução de *P. brachyurus* por partenogênese mitótica é o usual, pois machos são muito raros. A duração do ciclo varia de 3 a 4 semanas, sendo o ciclo mais curto na faixa de 26 a 30°C. Os solos arenosos favorecem a movimentação e o próprio desenvolvimento da espécie. No geral, o nematoide causa forte redução do número de raízes, que mostram lesões necróticas esparsas, muitas vezes de tonalidade mais escura. Com sistema radicular raso e pobre, na parte aérea ficam evidentes sintomas reflexos como nanismo, enfezamento, clorose e baixa produtividade.

A cultura do algodão é a mais afetada por *R. reniformis*, entretanto, dependendo da cultivar e da população do nematoide no solo, também podem ocorrer danos na cultura da soja. A partir do final da década de noventa, o nematoide reniforme vem aumentando em importância na cultura da soja. Ainda, diferentemente das demais espécies que ocorrem na soja, o nematoide reniforme não parece ter sua ocorrência limitada pela textura do solo, ocorrendo tanto em solos arenosos quanto em argilosos, nestes últimos, normalmente é a espécie de nematoide predominante (EMBRAPA, 2010).

2.2 Controle Biológico de fitonematoides

A grande maioria dos fitonematoides passa pelo menos parte do seu ciclo de vida no solo, e sua atividade é influenciada pela variação de fatores físicos (temperatura, umidade e aeração), químicos (defensivos e fertilizantes) e também biológicos.

Entre as medidas que vem sendo pesquisadas para o controle de nematoides destaca-se o controle biológico, que segundo Bettiol et al. (1995) no contexto do controle biológico de doença de planta é o resultado da interação entre o hospedeiro, o patógeno e diversos não patógenos que habitam o sítio de infecção, apresentando potencial para limitar a atividade do patógeno ou aumentar a resistência do hospedeiro. Deste modo os componentes do controle biológico são o patógeno, o hospedeiro e os antagonistas, sob a influência do ambiente, todos interagindo num sistema biológico.

Cook e Baker (1983) definem controle biológico como a redução da densidade de inoculo ou das atividades determinantes da doença, esta provocada por um patógeno ou parasita nos seus estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos, realizada naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução em massa de um ou mais antagonistas.

O termo antagonista emprega-se aos agentes biológicos com potencial de interferir nos processos vitais dos fitopatógenos. Desta forma, o nicho ecológico ocupado por fungos antagonistas favorece o controle biológico, pois neste local podem competir por nutrientes e espaço com os patógenos, bem como produzir substâncias tóxicas a estes organismos, ou ainda, induzir a planta a ter resistência a doença (MELO; AZEVEDO, 1998).

Mais de 200 inimigos naturais de fitonematoides têm sido reportados, dentre eles fungos, bactérias, nematoides predadores e ácaros entre outros (STIRLING, 1991). Dentre estes, os fungos têm se destacado com cerca de 75% dos antagonistas identificados, habitando normalmente o solo podendo ser parasitas de ovos, predadores de juvenis, adultos ou cistos, ou ainda produzirem metabólitos tóxicos aos nematoides (JATALA, 1986). Alguns fungos nematófagos também podem ser capazes de colonizar endofiticamente raízes de plantas e, além disso, controlarem doenças causadas por fungos de solo (MONFORT et al., 2005).

O controle biológico assume um papel muito importante dentro destas práticas de manejo, com atuação direta sobre os patógenos no solo, com a utilização de diversos micro-organismos antagonistas, como o uso das bactérias, *Bacillus subtilis*, *Pasteuria penetrans*, *Pseudomonas* sp. e os fungos *Paecilomyces lilacinus* (Sinonímia: *Purpureocillium lilacinum*), *Trichoderma* spp., *Monacrosporium* sp. e *Arthrobotrys* sp. Fungos como o *Trichoderma harzianum* (Rifai) e o *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom, são importantes antagonistas no solo contra doenças radiculares e nematoides fitopatogênicos.

O nematoide *H. glycines* tem sido relatado como um nematoide que causa sérios problemas para a cultura da soja. Vários grupos de organismos participam do controle deste fitonematoide através de predação, parasitismo e competição. Estes grupos taxonômicos incluem fungos, bactérias, vírus, rickétsias, protozoários, artrópodes, turbelários, tardígrados, anelídeos, ácaros, insetos, nematoides e plantas (STIRLING, 1991). Apesar dessa diversidade de antagonistas, porém poucos desses organismos apresentam potencial efetivo de regular a população do nematoide. Segundo o autor, os fungos têm sido os mais promissores agentes de controle, além de algumas poucas bactérias. Os organismos mais frequentemente testados para o controle do nematoide do cisto são os fungos *P. lilacinus*, *P. chlamydosporia*, *Lecanicillium lecanii*, *Hirsutella* spp. isolado ARF18, *Fusarium* spp., poucas espécies de fungos nematófagos predadores, e as bactérias *Pasteuria* spp. e *Bacillus* spp. (NUNES (2008).

Fungos antagonistas de nematoides podem ser divididos em: predadores, endoparasitos, parasitas oportunistas (parasitas de ovos, cistos e fêmeas sedentárias) e aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematoides (JATALA, 1986). A ação desses organismos na manutenção das populações de nematoides a níveis inferiores do que ocorreria na sua ausência é geralmente conhecido como controle biológico (STIRLING, 1991). Esse fenômeno pode ocorrer naturalmente através do equilíbrio biológico natural da microbiota do solo, ou de forma induzida, por meio de introduções artificiais de antagonistas no ambiente estimulando sua atividade no solo (FERRAZ; SANTOS, 1995; JATALA, 1986; STIRLING 1991).

De acordo com Ferraz et al (2012) para que um micro-organismo seja considerado um bom agente de controle biológico, ele deve possuir vários atributos como: não ser patogênico às plantas, seres humanos e outros animais; ser eficiente em reduzir ou suprimir a população de nematoides em alta densidade; sobreviver a

condições extremas do solo na ausência do hospedeiro; parasitar diversas espécies de nematoides; ser capaz de disseminar assim que aplicado ao solo, garantindo seu estabelecimento; ser facilmente e economicamente produzido em massa; permanecer infectivo após longo tempo de armazenamento; e ser compatível com fertilizantes, defensivos agrícolas e outras práticas culturais. Apesar de ser praticamente impossível reunir todas essas características em um microrganismo, os fungos e as bactérias são grupos que apresentam o maior número de características desejáveis (JATALA, 1986; STIRLING 1991; FERRAZ; SANTOS, 1995).

Soares; Santos (2006) relatam que cerca de 75% dos antagonistas identificados como possíveis agentes no controle biológico dos fitonematoides e apresentando posição de destaque estão os fungos, encontrados normalmente no solo e inofensivos às culturas e ao homem, parasitam ovos, predam juvenis, adultos ou cistos, ou ainda produzem substâncias tóxicas aos nematoides.

Kerry (1987), Stirling (1991) e Sikora (1992), relataram que bactérias da rizosfera reduzem o nível de danos de nematoides com liberação de toxinas ou modificação dos exsudatos radiculares, sendo de fácil crescimento *in vitro*; além disso, podem ser aplicadas em tratamento de sementes. Porém, estes autores relataram certas desvantagens desses microrganismos como durabilidade curta, especificidade e pouco efeito na redução da multiplicação dos nematoides.

A bactéria *P. penetrans* é considerada por muitos pesquisadores um dos mais promissores agentes de controle biológico de nematoides, não apenas pela agressividade, como também por sua rusticidade. A sobrevivência prolongada dos endósporos no solo, a resistência ao calor e à dessecação, a inocuidade ao homem e a outros animais, bem como o possível uso em conjunto com práticas culturais, são as principais vantagens desse microrganismo (OOSTENDORP et al., 1990; FREITAS; CARNEIRO, 2000).

Entre os principais inimigos naturais as bactérias, notadamente as endofíticas, apresentam potencial para o controle de fitonematoides, principalmente endoparasitas. Sikora; Padhan (2007) relataram redução de 40% na penetração e formação de galhas de *Meloidogyne graminicola* com inoculações de *Bacillus megaterium* nas raízes de arroz. Além disso, a colonização das raízes com esta bactéria diminuiu a migração do nematoide para a rizosfera em 60% e seus metabólitos reduziram em 60% a eclosão dos ovos.

Outras espécies de *Pasteuria* foram descritas com base em suas características morfológicas, morfométricas e de gama de hospedeiros: *P. thornei* Star; Sayre, parasita dos nematoides das lesões das raízes *P. brachyurus*, *P. nishizawae* Sayre (FREITAS; CARNEIRO, 2000), ambas ocorrendo em cafeeiros. No Brasil, o primeiro registro do parasitismo de *P. penetrans* em *Meloidogyne* sp. foi em 1966, em tomateiros infestados com *M. javanica*.

A adesão do endósporo da bactéria *P. penetrans* à cutícula do nematoide constitui o primeiro evento que leva ao parasitismo desse hospedeiro. Quando em associações compatíveis, há, obrigatoriamente, uma especificidade do isolado bacteriano à população do hospedeiro e essa especificidade está ligada à natureza da cutícula do J2 de espécies de *Meloidogyne* em interação com o endósporo da *P. penetrans* (DAVIES; DANKS, 1992). Um fator que pode estar relacionado com a especificidade entre *Pasteuria* spp. e gêneros de nematoides hospedeiros é o tamanho do endósporo.

2.2.1 Fungos nematófagos usados no controle de nematoides

Os fungos são os inimigos naturais dos nematoides mais pesquisados (CHEN; DICKSON, 2004, citados por FERRAZ et al., 2012). Um grande número de gêneros e espécies de fungos nematófagos ocorrem naturalmente no solo e são capazes de capturar nematoides. São conhecidos cerca de 70 gêneros e 160 espécies com habilidade de usar nematoides em sua alimentação. O primeiro fungo nematófago isolado e descrito foi o *Arthrobotrys oligospora* em 1852 por Fresenius, ao qual não percebeu o hábito predatório desse microrganismo; apenas foi relatado anos mais tarde por Zopf em 1888 (FERRAZ et al., 2012).

No Brasil o primeiro relato de fungos parasitando nematoides foi feito por Freire e Bridge (1985). Nesse trabalho, os autores observaram que ovos, juvenis e fêmeas de *Meloidogyne incognita* eram parasitados por *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia* (= *Verticillium chlamydosporium*), porém Soares; Santos, 2006 mencionam que no Brasil, os primeiros relatos de trabalhos relativos ao controle biológico de nematoides foram feitos por Alcântara; Azevedo (1981), que isolaram alguns fungos a partir de nematoides infectados, deixando controverso a questão dos primeiros relatos.

Os fungos nematófagos são capazes de capturar, parasitar ou paralisar nematoides em qualquer estágio de seu ciclo de vida. Eles são divididos em grupos de acordo com seu modo de ação ou estratégia utilizada para capturar os nematoides: ectoparasitas ou predadores, endoparasitas, parasitas de ovos e fêmeas e produtores de metabólitos tóxicos (JANSSON et al., 1997).

Os fungos predadores são os mais promissores devido à facilidade de se estabelecerem no solo, pois são comuns e abundantes em solos naturais agrícolas e em todo tipo de material orgânico e pelas suas habilidades saprofíticas permanecem no solo mesmo na ausência do nematoide, estes capturam nematoides móveis no solo com estruturas de captura ou armadilhas especializadas formadas ao longo do crescimento vegetativo das hifas. A morfologia e funcionalidade das armadilhas diferem em função da espécie do fungo, os quais podem ser divididos em quatro grupos principais, de acordo com o tipo de armadilha que apresentam: redes adesivas, nódulos adesivos, ramos adesivos e anéis constritores (AHREN; TUNLID, 2003). Estes fungos apresentam baixa especificidade de hospedeiros e podem ser mais ou menos especializados ou saprófitas no solo.

Os fungos nematófagos endoparasitas não formam armadilhas, porém usam seus conídios que emitem suas estruturas para infectar os nematoides. Estes conídios podem ser móveis ou não. Muitos desses fungos são parasitas obrigatórios e passam sua vida vegetativa dentro de nematoides infectados, formando apenas os conídios fora do corpo do hospedeiro. No solo, eles sobrevivem basicamente por meio desses conídios. Normalmente têm mais especificidade que os predadores (JANSSON et al., 1997). Ovos e fêmeas de nematoides em estágios sedentários de vida podem ser infectados.

De acordo com Ferraz et al. (2012) o potencial de uso de fungos endoparasitas em programas de controle biológico é limitado, devido aos seguintes fatores: a locomoção e a atividade dos conídios dependem da presença de água no solo, crescimento limitado em meio de cultura, o que dificulta a produção massal, baixa habilidade de sobrevivência saprofítica e a suscetibilidade de seus esporos ao efeito micostático.

Dentre os vários fungos nematófagos, os ovicidas ou oportunistas estão entre os mais promissores, tanto pela capacidade saprofítica quanto pelo fácil crescimento *in vitro*. Para o controle de nematoides de galha podem ser muito eficientes, visto que a massa de ovos desses nematoides é compactada numa matriz gelatinosa em

cada fêmea, facilitando a colonização (BARRON, 1977). Dentre o grande número de fungos parasitas de ovos conhecidos, apenas *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus* têm sido melhor estudados devido aos resultados promissores apresentados (JATALA et al., 1980; ATKINS et al., 2003).

O fungo *P. lilacinus* é um parasito de ovos e cistos e trata-se de um oportunista com muito pouca especificidade de hospedeiros, embora os diferentes isolados em geral difiram na sua habilidade para parasitar os ovos e os cistos de diferentes espécies de nematoides (GOETTEL et al., 2001). Este fungo é um saprófita capaz de utilizar grande faixa de substratos e cresce bem às temperaturas entre 15 e 30 °C, com ótimo entre 25 e 30 °C. Sua adaptabilidade a uma ampla faixa de pH do solo torna-o um organismo competitivo em solos agricultáveis. Além disso, *P. lilacinus* é compatível com muitos fungicidas e nematicidas (VILLANUEVA; DAVIDE, 1983; JACOBS et al., 2003).

Quando aplicado no solo o fungo se estabelece, cresce e dissemina-se rapidamente e, em curto período de tempo, ou seja, próximo a 30 dias torna-se a espécie dominante. Em testes de laboratório infectou ovos de *M. incognita* e destruiu os juvenis em curto espaço de tempo, confirmando sua eficácia como agente do biocontrole. O processo de infecção de ovos de *Meloidogyne* spp. por fungo *P. lilacinus* inicia-se com o crescimento da hifa do fungo sobre a gelatina que recobre a massa de ovos do nematoide. A colonização dos ovos aparenta ocorrer pela simples penetração da parede do ovo por uma hifa individual, auxiliada por atividades mecânicas e/ou enzimáticas (JATALA, 1986). A protease serina produzida por *P. lilacinus* possui um papel importante na penetração do fungo através da cutícula dos ovos dos nematoides (BONANTS et al., 1995). Após a penetração, em curto espaço de tempo, os ovos são completamente colonizados pelo fungo.

Segundo Jatala (1986), os resultados da aplicação de *P. lilacinus* a campo, em algumas fazendas no Peru, evidenciaram a eficácia do fungo no controle de *M. incognita* em diferentes culturas e também de *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, em citros.

O gênero *Paecilomyces* pertence ao super-reino Eucaryota filo Ascomycota, classe Acomycetes, ordem Eurotiales, família Trichocomaceae. O fungo *P. lilacinus* pode ser isolado na maioria dos solos agrícolas, sendo também frequentemente isolado em ovos e nas fêmeas de *Meloidogyne*. O parasitismo deste fungo é

facultativo, podendo infectar nematoides nas fases móveis, fêmeas sedentárias ou mais agressivamente em ovos (JACOBS, 2002)

No Brasil existem registros de *P. lilacinus* em diferentes tipos de solos, cultivados ou não, em profundidades variáveis de 0-40 cm, ou mais (CARNEIRO, 1986). Frequentemente tem sido isolado de diferentes hospedeiros ou de substratos provenientes de várias localidades, com distribuição cosmopolita e maior frequência em solos agricultáveis. Tigano-Milani et al. (1993) encontraram 29 isolados de *P. lilacinus* em amostras oriundas de 22 municípios distribuídos 9 estados do país. Costa et al. (1997), estudando a associação de fungos a cistos de *H. glycyne*, encontraram *P. lilacinus* nos municípios de Iraí de Minas-MG e Chapadão do Céu-GO.

Santiago et al. (2006), em trabalho de seleção de diferentes isolados de *P. lilacinus*, provenientes de diversas localidades, oriundos de amostras de solos de diversas culturas, pastagens e matas, observaram que alguns isolados foram eficientes para o controle de *Meloidogyne paranaensis* no cultivo do tomateiro em casa de vegetação, pois reduziram a população dos nematoides e apresentaram uma elevada taxa de sobrevivência no solo, características desejáveis para um agente de biocontrole.

O fungo *P. chlamydosporia* também tem sido apontado como um agente de biocontrole de nematoides com expressivo potencial. O fungo é capaz de sobreviver na ausência do hospedeiro, visto que produz clamidósporos, o que o torna mais resistente a condições adversas do ambiente que outros, além de ser facilmente cultivado *in vitro*. É um parasito de ovos dos nematoides de cisto e dos formadores de galha (FREIRE; BRIDGE, 1985). Foi apontado como uma das principais causas do declínio de populações do nematoide de cistos dos cereais em monocultura na Inglaterra (KERRY et al., 1982). Pode reduzir as populações de nematoides em mais de 90% quando aplicado a campo (DELEIJ et al., 1993).

Kerry; Hidalgo-Dias (2004), desenvolveram um sistema de manejo integrado de controle de nematoides de galha em cultivos orgânicos baseado no uso de *P. chlamydosporia*. Este isolado está sendo produzido em massa em Cuba e comercializado com o nome de KlamiC[®]. Estes autores mencionaram ainda que esse fungo preveniu a eclosão de juvenis de *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood colonizando os ovos do nematoide. Tanto a parede do ovo quanto a cutícula do juvenil aparentam ser fisicamente impenetráveis; contudo, ocorreu a penetração de

hifas do fungo as quais se desenvolvem endogenamente tanto em ovos quanto em juvenis.

Deleij et al. (1993) constataram efeito sinérgico da aplicação de Aldicarb com *Verticillium chlamyosporium* (= *P. chlamyosporia*) para o manejo da população de *M. incognita*, obtendo 100 % de controle. Este estudo sinaliza com a possibilidade da utilização combinada de nematicidas com fungos nematófagos de modo a permitir a redução da quantidade de pesticida químico aplicada ao solo, sem comprometer ou até aumentando a eficácia do tratamento.

Ensaio conduzido por Nunes (2008), em casa de vegetação infestando plantas com *M. incognita*, os tratamentos biológicos reduziram o número de ovos nas raízes, tendo *P. lilacinus* favorecido a manutenção do peso seco das raízes. Nos ensaios em campo, em 2 áreas naturalmente infestadas com *M. incognita* e *H. glycines*. *P. chlamyosporia* foi o agente mais efetivo na redução do número de cistos de *H. glycines* no solo, tendo também os tratamentos com *P. lilacinus* reduzido significativamente estes inóculos.

O gênero *Trichoderma* corresponde a fase anamórfica do gênero *Hypocrea*, pertencente a classe dos fungos Mitospóricos, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales, família Hypocreaceae (SAMUEL, 1996). Dos fungos com potencial de antagonismo, este gênero é um dos mais pesquisados e estudados e sua eficiência tem sido demonstrada em trabalhos de laboratório, casa de vegetação e a campo, mostrando-se eficiente como um agente biocontrolador de patógenos em diferentes situações. Este antagonista tem mostrado melhor atuação em patógenos habitantes do solo e menos especializados como por exemplo, *Phythium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. e *Sclerotinia* sp., pois como também é um habitante do solo suas características de antagonismo são melhores expressas neste ambiente (MELO, 1991; 1996).

Coutinho; Suassuna (2007) relatam que a doença murcha causada por *Fusarium* é agravada pela presença de nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* e *Rotylenchulus*, que aumentam a severidade, pois causam debilidade na planta e provocam ferimento nas raízes, facilitando a penetração do patógeno no seu sistema radicular. Estudos com diferentes concentrações de *T. harzianum*, demonstram um decréscimo na infecção por *M. javanica*, em plantas de tomate (SAHEBANI; HADAVI, 2008).

Santin (2008) supõe que isolados de *Trichoderma* sp. e de *P. lilacinus*, apresentam mecanismos de ação que podem ser usados efetivamente no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne*, causadores de galhas. E ainda que o uso consorciado destes micro-organismos pode ser eficientes no controle de nematoides de galhas.

Recentemente, trabalhos apontam para o potencial do uso de *Trichoderma* sp. no controle de nematoides destacando sua ação sobre a colonização e parasitismo de ovos e de juvenis J2 (segundo estágio). No entanto, não existem trabalhos elucidando os mecanismos envolvidos na ação parasítica deste fungo sobre nematoides (SANTIN, 2008)

2.3. Compatibilidade de fungos com produtos fitossanitários químicos.

Os fungos entomopatogênicos e nematófagos são importantes agentes de controle biológico de pragas e nematoides; contudo o uso de produtos fitossanitários que ocorrem no cultivo pode inibir o desenvolvimento desses fungos, podendo até inviabilizar a ação desses fungos.

Como os defensivos químicos apresentam ação tóxica sobre os insetos parasitoides e predadores, também podem atuar negativamente inibindo fungos e outros entomopatógenos. Numerosos trabalhos foram realizados e vem demonstrando que da mesma forma que existem produtos altamente tóxicos aos entomopatógenos, ocorrem outros que apresentam grande seletividade a eles (CARNEIRO, 1971).

Silva et al. (2005) mencionam que os estudos de compatibilidade entre produtos fitossanitários e fungos têm sido realizados desde os primeiros programas de controle com estes patógenos, entretanto, as técnicas utilizadas são geralmente muito diversas, principalmente no método de contato entre o fungo e o produto, nas doses utilizadas e nos parâmetros avaliados, dificultando a comparação dos resultados obtidos nos diferentes estudos.

Poucas são as recomendações e tentativas de padronização dos testes de compatibilidade. A IOBC – International Organization for Biological Control, sugere uma metodologia para testes de compatibilidade, em laboratório, semi-campo e campo (SILVA et al., 2005). Nesta metodologia, em laboratório, estuda-se o

crescimento vegetativo e a produção de esporos em meio batata-dextroseágar (BDA) contendo o produto.

Outra metodologia padrão foi proposta por Alves et al.(1998) segundo a qual os produtos químicos são adicionados em concentrações pré estabelecidas (geralmente as recomendadas em campo) ao meio de cultura fundido, ainda não solidificado. Os parâmetros avaliados são diâmetro de colônias (crescimento vegetativo) e a produção de esporos (esporulação). Os autores sugerem ainda a classificação dos produtos quanto a sua toxicidade ao patógeno, baseada na fórmula $T = \{20(CV) + 80(ESP)\}/100$, onde os valores para CV (crescimento vegetativo) e ESP (esporulação) são obtidos em relação à testemunha (100%). O valor T define a toxicidade dos produtos nos intervalos: 0 a 30 = muito tóxico; 31 a 45 = tóxico; 46 a 60 = moderadamente tóxico; > 60 = compatível. A metodologia proposta por Alves et al. (1998) é a mais utilizada *in vitro* e tem sido adotada em muitos experimentos, principalmente no Brasil (ALVES , 1998; BATISTA FILHO et al., 2001), porém esta metodologia, assim como a da IOBC, não considera o efeito direto dos produtos fitossanitários sobre a germinação dos esporos de fungos, considerada por muitos autores como o principal fator na compatibilidade (SILVA et al., 2005).

Outra metodologia foi proposta por Rossi-Zalaf al. (2008), utilizando os parâmetros crescimento vegetativo, esporulação e germinação, o modelo matemático Índice Biológico (IB) para a determinação da compatibilidade entre os fungos e os produtos fitossanitários químicos. De acordo com os valores obtidos, realiza-se uma comparação com os limites estabelecidos por Rossi-Zalaf et al. (2008) para determinação da toxicidade dos produtos estudados, como segue: 0 a 41 – tóxico; 42 a 66 – moderadamente compatível; >66 – compatível.

Botelho (2010) avaliou a toxicidade dos agroquímicos mais utilizados no manejo da cana-de-açúcar sobre os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em experimentos feitos em meio de cultura e no solo. A maior parte dos agroquímicos utilizados no manejo da cana-de-açúcar tem efeito tóxico sobre os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, podendo comprometer sua ação dos mesmos agentes de controle de pragas da cultura. No entanto, os inseticidas formulados à base de thiametoxan e fipronil se mostraram compatíveis ou moderadamente compatíveis com os fungos, sugerindo que possam ser empregados em uma possível estratégia de uso associado para o controle de pragas. Este resultado está

de acordo com os obtidos por Alves et al., 1998, Batista Filho et al. (2001) e Neves et al. (2001) que avaliaram a compatibilidade de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sob ação do inseticida thiametoxam classificando este inseticida como compatível com os entomopatógenos.

Agnes et al. (2013) com o objetivo de avaliar o efeito de produtos fitossanitários sobre o fungo entomopatogênico *Isaria fumosorosaea* (isolado UFMS 04), através de ensaio *in vitro* utilizando os inseticidas Premio, Engeo Pleno e Match, os herbicidas, Glifosato 480 e Flex e os fungicidas Fox e Comet, nas concentrações mínima e máxima recomendada pelos fabricantes, avaliando algumas características como conidiogênese, crescimento vegetativo (CV) e a germinação, observaram que o inseticida Premio na dose mínima não interferiu na conidiogênese e proporcionou um crescimento vegetativo significativamente superior a testemunha enquanto os demais promoveram reduções significativas. Ao avaliar a germinação verificaram também que os inseticidas Premio nas duas doses e Engeo Pleno na dose mínima não promoveram interferência significativa. Fazendo a análise conjunta desses parâmetros através do IB (índice biológico) verificou-se que apenas Premio na dose mínima foi compatível com *I. fumosorosaea*. Premio na dose máxima, Engeo Pleno, Match e Glifosato nas doses mínimas e Flex nas duas doses foram moderadamente compatíveis. Os demais produtos utilizados e doses foram tóxicos ao fungo *Isaria fumosorosae*.

Oliveira et al. (2013), avaliando o efeito de diferentes inseticidas utilizados para o controle da mosca branca na cultura da soja sobre o fungo entomopatogênico *B. bassiana* (isolado IBCB 66), utilizando os produtos Cordial 100, Engeo Pleno, Imidaclopride, Connect, Oberon e Tiger 100EC foram misturados ao meio nutritivo nas doses mínima, média e máxima, quando possível, observando o crescimento vegetativo, a conidiogênese e a porcentagem de germinação. Os dados obtidos também foram utilizados para se calcular fator de compatibilidade (IB = índice biológico). Verificaram que Connect na dose média e Oberon na dose mínima não interferiram no crescimento vegetativo. Apenas Tiger na dose máxima não interferiu na conidiogênese. Todos os produtos e doses reduziram significativamente a germinação. Com relação ao IB verificou-se que os produtos Imidaclopride, Cordial, Engeo Pleno e Tiger (nas diferentes doses) foram considerados tóxicos. Connect (nas diferentes doses) e Oberon (nas doses mínima e máxima) foram medianamente

tóxicos. O único tratamento compatível com o fungo *B. bassiana* foi o Oberon na dose média.

Pessoa; Loureiro (2013) avaliaram o efeito de alguns fungicidas utilizados para o controle da ferrugem da soja sobre o fungo *Nomureae rileyi*, e também qual técnica é a mais apropriada para determinação da compatibilidade entre *N. rileyi* e estes produtos, utilizando os fungicidas Arouch Prima, Nativo, Priori, PrioriXtra, Fox e Opera, nas doses mínima e máxima, quando possível. Foram realizados 3 bioensaios: (1) mistura dos produtos ao meio nutritivo, (2) aplicação dos produtos via torre de Potter (antes e depois da inoculação do fungo), além de um teste de semi campo (3) onde aplicou-se primeiramente os produtos e, posteriormente, o entomopatógeno (após secagem do excesso de água das caldas fúngicas) e primeiramente o entomopatógeno e, posteriormente, os produtos (após secagem do excesso da suspensão de *N. rileyi*), observando o crescimento vegetativo, produção de conídios e unidades formadoras de colônias (UFC) produzidas. Verificaram que todos os fungicidas e doses testados reduziram significativamente o crescimento vegetativo, a viabilidade e o número de UFC do fungo entomopatogênico, sendo todos considerados tóxicos e incompatíveis com *N. rileyi*, isolado UFMS 02. Com relação a verificação de qual técnica é a mais apropriada para determinação da compatibilidade entre o fungo e os fungicidas, verificou-se que não houve interferência dos testes realizados sobre a classificação quanto a compatibilidade ou não dos produtos e doses testadas continuando o teste de laboratório com a mistura dos produtos ao meio nutritivo como sendo o padrão.

Carniel et al. (2013) com objetivo de determinar o efeito de alguns inseticidas utilizados na cultura da soja sobre *N. rileyi* (UFMS 02), através de testes realizados *in vitro*, misturaram Engeo Pleno, Tamaron, Lannate e Karate (todos nas doses mínima e máxima) e Match (em dose única) ao meio de cultura e realizando a inoculação do fungo e avaliando os parâmetros de crescimento vegetativo, produção de conídios e unidades formadoras de colônia (UFC). A germinação dos conídios foi avaliada após exposição dos mesmos a caldas contendo os diferentes inseticidas e doses. Também determinou-se a compatibilidade ou não dos produtos, através do cálculo do índice biológico. Verificou-se que os produtos Match, Lannate e Tamaron na dose mínima não interferiram significativamente no crescimento vegetativo. Todos reduziram significativamente a produção de conídios. Apenas os inseticidas Match, Engeo Pleno e Karate na dose máxima reduziram significativamente a

germinação dos conídios. Ao avaliar as UFC verificou-se que o inseticida Engeo Pleno na dose mínima interferiu positivamente proporcionando resultados superiores a testemunha. Os demais inseticidas e doses foram significativamente inferiores à testemunha. Avaliando a compatibilidade, verificou que todos os produtos em suas doses mínimas e o Match foram classificados como moderadamente tóxico e as doses máximas foram classificados como tóxicas.

Até o presente momento, trabalhos de compatibilidade em relação aos fungos nematófagos são escassos na literatura. Nunes (2008) estudou a compatibilidade de alguns fungicidas e inseticidas aos fungos nematófagos *P. lilacinus* e *P. chlamydosporia*. Apenas os inseticidas Regent e Standak se mostraram compatíveis com o fungo *P. chlamydosporia*, obtendo 86% e 91% de germinação de conídios, respectivamente. Para os outros produtos a germinação ficou abaixo de 10%. O mesmo resultado foi também verificado para *P. lilacinus* em relação os produtos Regent e Standak, para os quais se obteve 92% e 87% de germinação de conídios, respectivamente.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNES, D.C.; ALPE, V.; PESSOA, L.G.A; LOUREIRO, E.S. Compatibilidade de produtos fitossanitários como fungo *Isaria fumosorosaea*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13. 2013, Bonito. Anais. Brasília: SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL/EMBRAPA, 2013.

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

ALCÂNTARA V.S.B.; AZEVEDO, J.L. Isolamento e seleção de fungos predadores de nematoide. **Revista de agricultura**, v. 56, p 132-146, 1981.

ALMEIDA, F.S. INFLUÊNCIA DA COBERTURA MORTA DO PLANTIO DIRETO NA BIOLOGIA DO SOLO. IN: FANCELLI, A. L., TORRADO, P. V.; MACHADO, J. (EDS.) **ATUALIZAÇÃO EM PLANTIO DIRETO**. CAMPINAS, FUNDAÇÃO CARGILL. 1985. P.103-144.

ALVES, S.B.; MOINO JR., A.; ALMEIDA, J.E.M. **Produtos fitossanitários e entomopatógenos**, p. 217-238. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p. 1998.

ANDRADE, V.; CELLA, V.; DAROIT, L.; SILVA, J.F. REAÇÃO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE SOJA AO NEMATOIDE DAS LESÕES RADICULARES *PRATYLENCHUS BRACHYURUS*. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5., 2009; MERCOSOJA, 2009, GOIÂNIA. **ANAIS....** LONDRINA. EMBRAPA SOJA, 2009. SEÇÃO TRABALHOS, T. 3. 1 CD-ROM

ATKINS, S.D.; HIDALGO-DIAZ, L.; KALISZ, H.; MAUCHLINE, T.H.; HIRSCH, P.R.; KERRY, B.R. Development of a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. **Pest Management Science**, Brighton, v. 59, p. 183-189, 2003.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 437-447, 2001.

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

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. IN: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia. Princípios e Conceitos**. 3 ed, v.1 São Paulo: Agronômica Ceres, p 717-728, 1995.

BENZ, G. Environment. In. FUXA, R.; TANADA, Y. (Eds.). **Epizootiology of insect diseases**. New York: Wiley, 1987. p.177-214.

BONANTS, P. J. M.; FITTERS, P. F. L.; DEN BELDER, E.; WAALWIJK, C.; HENFLING, J. W. D. M. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. **Microbiology**, Dublin, v. 141, p. 775-784, 1995.

BOTELHO, A.A.A. 2010 **Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com agroquímicos utilizados no manejo integrado da cultura da cana-de-açúcar.** (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 58 p

CARNEIRO, J.S. **Toxidade de defensivos agrícolas sobre os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.** Piracicaba, 1971, p.78. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

CARNEIRO, R.M.D.G. **Etude 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. IN: <http://www.scielo.br/scielo.php>. Acesso em 04/11/2011.

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

CARNIEL, A.S.; PESSOA, L.G.A.; LOUREIRO, E.S.; DUTRA, K.R.; RIBEIRO, M.P.; JUNIOR, R.JT.; CRUZ, P.M.D.; PEREIRA, G.H.O.; MUCHALAK, F. Bioatividade, em laboratório, de alguns inseticidas utilizados na cultura da soja sobre o fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13. 2013, Bonito. Anais. SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL/EMBRAPA, 2013.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. **The American Phytopathology Society**, St Paul, p 539, 1983.

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

COUTINHO, W.M.; SUASSUNA, N.D. Cultivo do Algodão Herbáceo na Agricultura Familiar. 2007. IN: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar/doencas.html>. Acesso em 10/11/2011.

DAVIES, K.G.; DANKS, C. Interspecific differences in the nematode surface coat between *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria* related to the adhesion of the bacterium *Pasteuria penetrans*. **Parasitology**, London, v. 105, n. 3, p.475-480, 1992.

DELEIJ, F.A.A.M.; DENNEHY, J.A.; KERRY, B.R. Effect of watering on the distribution of *Verticillium chlamydosporium* in soil and the colonization of egg masses of *Meloidogyne incognita* by the fungus. **Nematologica**, Leithen, v. 39, p. 250-265, 1993.

DIAS, W.P.; RIBEIRO, N.R.; PIVATO, A.; MOLINA, D. Avaliação da Reação de genótipos de soja ao nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*). In: Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil, 29, 2007, Campo Grande, MS. **Resumos.....**Londrina: Embrapa Soja/ Uniderp, 2007. p. 62-63. (Embrapa Soja. Documentos).

DIAS, W.P., J.F.V. SILVA, G.E.S. CARNEIRO, A. GARCIA.; C.A.A. ARIAS. **Nematoide de Cisto da Soja: Biologia e Manejo Pelo Uso da Resistência Genética**. Revisão. Embrapa Soja, 16p. 2009.

DIAS, W.P.; DEBIASSI, H.; FRANCHINI, J.C.; RIBEIRO, N.R.; CARVALHO, S.A.; MACEDA, A. Pragas em evolução. **Revista Cultivar**, 12-14p., 2011.

DUARTE, A.; MENENDEZ, J.M.; TRIGUEIRO, N. Estudio preliminar sobre la compatibilidad de *Metarhizium anisopliae* com algunos plaguicidas quimicos. **Revista Baracoa**, La Habana, v. 22, p. 31-39, 1992.

EMBRAPA. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. **Nematoides em Soja: Identificação e Controle**. Circular técnica 76. Londrina, PR, 2010.

FAMASUL. 2014. Disponível em: (http://www.famasul.com.br/assessoria_interna/colheita-da-soja-atinge-2-em-mato-grosso-do-sul/24479/). Acesso em janeiro de 2014.

FERNANDES, J.M.C. As doenças das plantas e o sistema plantio direto. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 5, p. 317-352, 1997.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. Viçosa, MG, Ed. UFV, 2012. 306p.

FERRAZ, S.; SANTOS, M.A. Controle Biológico de fitonematoides pelo uso de fungos. IN: LUZ, W.C. (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: EMBRAPA, 1995. p. 283-314.

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.; DICKSON, D.W.; MITCHELL, D.J.; MCSORLCY, R. Suppression of *Meloidogyne arenaria* by *Pasteuria penetrans* in the field. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 24, n. 2, p. 147-156, 2000.

GOETTEL, M.S.; HAJEK, E.A.; SIEGEL, J.P.; EVANS, H.C. Safety of fungal biocontrol agents. In: BUTT, T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Ed.). **Fungal as biocontrol agents: problems, progress and potential**. Wallingford: Cabi, Cap. 13, p. 347-376. 2001.

INOMOTO, M.M.; MACHADO, A.C.Z.; ANTEDOMÊNICO, S.R. Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n.4, p. 341-344, 2007.

INOMOTO, M.M.; MOTTA L.C.C.; MACHADO, A.C.Z.; SAZAKI, C.S.S. Reação de dez coberturas vegetais a *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Brasília , v. 30, n.2,p.151–157, 2006.

JACOBS, H.; GRAY, S. N.; CRUMP, D. H. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. **Mycological Research**, Amsterdam, v. 107, p. 47-56, 2003.

JACOBS, P. Nematophagous fungi: Guide Philip Jacobs, BRIC version 2002. <http://www.biological-research.com/philipjacobs%20BRIC/pa-lila.htm>. Acesso em 25 mar. 2012.

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

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

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

KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae* under continuous cereals, 1975-1978. II. Fungal parasitism of nematode eggs and females. **Annals of Applied Biology**, Camberra, v. 100, p. 489-499, 1982.

KERRY, B. R. Biological control *In* R. H. Brown; B. R. Kerry, eds. 92 **Biological control of nematodes: prospects and opportunities Principles and practice of nematode control in crops**, p. 233-263. Sydney: Australia, Academic Press, 1987.

KERRY, B. R.; HIDALGO-DIAZ, L. Application of *Pochonia chlamydosporia* in the integrated control of root-knot nematodes on organically grown vegetable crops in Cuba. In: Sikora, R. A.; GOWEN, S.; HAUSCHILD, R.; KIEWNICK, S. Eds. Multitrophic interactions in soil. **IOBC/WPRS Bulletin**. v. 27, p. 123-126, 2004.

LORDELLO, L.G. **Nematoides das Plantas Cultivadas**. 8ª ed. São Paulo. Editora Gráfica Ltda., 1992.

LOUREIRO, E.S.; MOINO JR., A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G.C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.2, p.263-269, 2002.

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

MAPA. 2013. Disponível em: (<http://www.agricultura.gov.br>). Acesso em: janeiro de 2014.

MELO, I.S.; Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. IN: BETTIOL, W. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p. 7-23., 1991.

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de planta. IN: LUZ, W.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo fundo, v.4, p. 261-295, 1996.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia microbiana**. Jaguariuna: EMBRAPA-DNPMA, 1998. p.393-419.

MONFORT, E.; LOPEZ-LORCA, L.V.; JANSSON, H.B.; SALINAS, J.; PARK, J. O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonization of seminal roots of wheat and barley by eggparasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis*

var. *tritici* and development of root-rot. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 7, p. 1229-1235, 2005.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO JR. A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p.263-268, 2001.

NUNES, H.T. **Agentes microbianos no controle de nematoides e fungos fitopatogênicos de soja e sua compatibilidade com agroquímicos**. UNESP, JABOTICABAL, SP, 2008 (Tese de doutorado).

OOSTENDORP, M.; DICKSON, O.W.; MITCHELL, O.J. Host range and ecology of isolates of *Pasteuria* spp. From the southeastern United States. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 22, n. 4, p. 525-531, 1990.

OLIVEIRA, R.P.; PESSOA, L.G.A.; LOUREIRO, E.S. Compatibilidade entre inseticidas utilizados no controle da mosca-branca (*Bemisia tabaci* Genn. 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) em soja com fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. **In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO**, 13. 2013, Bonito. Anais. SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL/EMBRAPA, 2013.

PESSOA, L.G.A.; LOUREIRO, E.S. Compatibilidade de fungicidas utilizados no controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) (Sydow; P. Sydow) (Basidiomicotina: Urediniomycetes) com o fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO**, 13. 2013, Bonito. Anais. Brasília: SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL/EMBRAPA, 2013.

RIBEIRO, N.R.; BEZERRA, F.F.; SILVEIRA, T.F.; LIMA, C.P.; SILVA, C.S.; SILVA, A.P.L. Avaliação da resistência de genótipos de milho (*Zea mays*) ao nematoide *Pratylenchus brachyurus*. **In: 2º International congress of tropical nematology**. Maceió 2009. Seção Trabalhos, t. 41. 1 CD-ROM .

ROCHA, M.R.; SANTOS, L.C.; TEIXEIRA, R.A.; ARAÚJO, F.G.; REZENDE NETO, U.R.; FERREIRA, C.S.; FALEIRO, V.O.; COSTA, R.B. Reação de cultivares de soja a *Pratylenchus brachyurus* em área naturalmente infestada. In: **XXX Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil**. Rio Verde, Goiás. 2008.

SAHEBANI, H.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil; Biochemistry**, New York, v. 40, p. 2016-2020, 2008.

SAMUEL, G.J. *Trichoderma*: **A Review of biology and systematic of the genus**. **Journal Of Mycology**, Columbus, v.100, p.923-935, 1996.

SANTIAGO, D.C., HOMECHIM, M.; SILVA, J.F.V; RIBERIRO, 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**, v.36, n.4, Santa Maria, 2006.

SANTIN, R.C.M. **Potencial do uso de *Trichoderma* sp. e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris***. UFRS- Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, 2008. 92 p (Tese de doutorado) IN: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/15383>. Acesso em 04/11/2011.

SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. A world perspective on nematology: The role of society. In: VEECH, A. J.; DICKSON, W. D. **Vistas on Nematology**. Deleon Springs, FL: Society of Nematologists Inc., p. 7-14. 1987.

SIKORA, R. A. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, n. 30, p. 245-270, 1992.

SIKORA, R. A.; PADGHAM, J. L. Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. **Crop Protection**, v. 26, p. 971-977, 2007.

SILVA, A.R.; MARTINELLI, P.R.P.; SANTOS, J. M.; SHIMOYAMA, N.Y.; Controle Biológico de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* com uma formulação de fungos nematófagos na cultura da batata. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v 34, p 41-47, 2010.

SILVA, J.A.L.; NETO, L.M.O.; SOUSA, E.M.; CARVALHO, E.M.S. Levantamento da ocorrência do nematoide de cistos da soja (*Heterodera glycines*) em áreas de cultivo de soja (*Glycine max*) no cerrado do Piauí. Universidade Federal do Piauí, Pró-reitoria de extensão, Centro de Ciências Agrárias. **Comunicado Técnico**, n.6, p. 1-4, 2006.

SILVA, R.Z; NEVES, P.M.O.J.; SANTORO, P.H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 305-312, jul./set. 2005

SOSA-GÓMEZ, D.R.; SILVA, J.J. (Org.). **Fungos entomopatogênicos: catálogos de isolados**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. 32 p. Embrapa Soja. Documentos, 188).

SOARES, P.L.M. **Estudo do controle biológico de fitonematoides com fungos nematófagos**. 2006. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2006.

SOARES, P.L.M.; SANTOS, J.M. Utilização de fungos nematófagos no controle biológico de fitonematoides. p. 281-329. In: DE BORTOLI, S. A.; BOIÇA JUNIOR, A.L.; OLIVEIRA, J.E.M. **Agentes de controle biológico: metodologias de criação, multiplicação e uso**. Jaboticabal: Funep, 2006. 353 p.

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

TIGANO-MILANI, M.S. et al. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill, *Methariziun anisopliae* (Metsh) Sorok. e *Paecilomyces* sp. em solos de diferentes regiões do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, n. 2, p391-393, 1993.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2000, 473p.

VILLANUEVA, L. M.; DAVIDE, R. G. Effects of fungicides, nematicidas and herbicides on the growth of nematophagous fungi *Paecilomyces lilacinus* and *Arthrobotrys cladodes*. **Phil. Phytopathology**, v. 19, p. 24-27, 1983.

CAPÍTULO 1 – Biocontrole de fitonematóides, utilizando os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* na cultura da soja.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi de identificar quais as espécies de fitonematóides que ocorrem na cultura da soja, durante as Safras 2011/12 e 2012/13 e a eficiência dos fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de fitonematóides na cultura da soja, na região de Chapadão do Sul-MS. O delineamento experimental foi de blocos casualizados com quatro repetições, constituindo de seis tratamentos sendo estes compostos pela testemunha, sem a aplicação dos fungos, porém com o tratamento químico Cruiser 350 FS[®] + Maxim XL[®] via semente, um tratamento com nematicida químico marca comercial Avicta Completo[®], um tratamento com os fungos associados, tratamento somente com o fungo *P. lilacinus*, tratamento com nematicida associado ao *P. lilacinus* e por último o tratamento biológico e nematicida químico. Na Safra 2011/12, aos 32 e 60 dias após a emergência o tratamento com *P. lilacinus* em números absoluto apresentou os menores índices de nematóides nas raízes e no solo. A análise dos números absolutos mostrou uma maior produtividade para o tratamento com *P. lilacinus*. A menor produtividade foi verificada no tratamento Avicta[®] + *P. lilacinus* + *T. harzianum*. A associação de *P. lilacinus* com Avicta[®] + Cruiser[®] + Maxim XL[®] e com Avicta[®] + Cruiser[®] + Maxim[®] + *T. harzianum*, conferiu a estes tratamentos as menores produtividades. Na safra 2012/13, as análises dos números absolutos mostraram uma maior produtividade para o tratamento com *P. lilacinus* + *T. harzianum*. A aplicação sequencial, durante as safras 2011/12 e 2012/13 de *P. lilacinus* isoladamente e *P. lilacinus* + *T. harzianum*, reduziram as populações de nematóides *Pratylenchus brachyurus*, comprovando a presença dos fungos mesmo no tratamento testemunha, aos quais apresentaram redução da população de nematoides, devido ao crescimento da atividade biológica desses fungos no solo.

Palavras-chave: nematoides, controle biológico, produtividade.

CHAPTER 1 - Biocontrol of nematodes, using the fungi *Trichoderma harzianum* and *Paecilomyces lilacinus* in the soybean.

ABSTRACT

The objective was to identify which species of nematodes that occur in soybeans during the Vintage 2011/12 and 2012/13 and the efficiency of the fungi *T. harzianum* and *P. lilacinus* in biocontrol of plant parasitic nematodes on soybean in the region of Plain of South MS. The experimental design was randomized blocks with four replicates, making six treatments with these compounds by the witness, without the application of fungi, but with chemical treatment Cruiser 350 FS[®] + Maxim XL[®] via seed treatment with chemical nematicide trademark Full Avicta[®], treating the fungi associated with treatment only with the fungus *P. lilacinus* treatment nematicide associated with *P. lilacinus* and finally the biological treatment and chemical nematicide. Safra in 2011/12, after 32 and 60 days after emergence treatment with *P. lilacinus* in absolute numbers showed the lowest levels of nematodes in the roots and soil. The analysis of absolute numbers showed a higher productivity for treatment with *P. lilacinus*. The lowest yield was observed in the treatment Avicta[®] + *P. lilacinus* + *T. harzianum*. The association of *P. lilacinus* with Avicta[®] + Cruiser[®] + Maxim XL[®] and Maxim XL[®] + Avicta[®] + Cruiser[®] + *T. harzianum*, giving these treatments, the lowest yield. In the season 2012/13, the analysis of absolute numbers showed a higher productivity for treatment with *P. lilacinus* + *T. harzianum*. The sequential implementation during the 2011/12 and 2012/13 seasons of *P. lilacinus* isolation and *P. lilacinus* + *T. harzianum* reduced the populations of nematodes *Pratylenchus brachyurus*, proving the presence of fungi even in the control treatment, which decreased the population of nematodes, due to the growth of the biological activity of these fungi in the soil.

Keywords: nematodes, biological control, productivity.

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que na safra 2013-2014 o Brasil produzirá ao redor de 89,446 milhões de toneladas de soja, a área plantada cresceu 6% com 29,5 milhões de ha e aproximadamente 194 milhões de toneladas/ha (MAPA, 2013), atualmente é o maior exportador mundial. A região Central assume importância estratégica para o desenvolvimento da cultura no Brasil, contribuindo de forma crescente e determinante para consolidar sua posição alcançada no cenário internacional. O Estado de Mato Grosso do Sul é o 5º maior produtor responsável por 6,1 milhões de toneladas/ha e com uma área plantada de 2 milhões e duzentos mil hectares (FAMASUL, 2014).

No Brasil, os fitonematoides de maior importância são os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp. Chitwood), o de cisto (*Heterodera glycines* Ichinohe), o reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford; Oliveira) e o *Pratylenchus brachyurus* Filipjev; Schuurmans Stekhoveme, conhecido como "nematóide das lesões radiculares", e representa, atualmente, um problema para diversos sistemas de produção, causando perdas econômicas significativas e impacto econômico para várias culturas agrícolas, inclusive para a soja. Podem inviabilizar os cultivos dentro de áreas infestadas, prejudicando as plantas devido a sua ação nociva sobre o sistema radicular (DIAS et al., 2011), além disso, estes organismos predispõem as plantas ao ataque de doenças e estresses ambientais.

O seu manejo é muito difícil e oneroso, devido a hábitos, potencial de sobrevivência no solo, variabilidade de espécies, inter-relações entre diferentes patógenos (fungos e nematoides). Práticas de manejo são fundamentais para a convivência com este tipo de problemas, os quais devem incluir sementes de boa qualidade e sanidade, rotação de culturas, cultivares resistentes, cobertura do solo, plantas antagonistas, controle biológico e controle químico. Atualmente, o controle químico é uma medida que vem sendo adotada para minimizar os danos causados pelos nematoides das plantas cultivadas, porém devido ao impacto ambiental, baixa eficiência e alto custo desta medida de controle tornam-se necessário estudar alternativas de controle, a fim de reduzir os prejuízos causados.

Entre as medidas que vem sendo pesquisadas para o controle de nematoides destaca-se o controle biológico, pois apresenta uma série de vantagens em relação ao químico, pois não contamina, não desequilibra o meio ambiente e nem deixa

resíduos, além de ser barato e de fácil aplicação. O controle biológico assume um papel muito importante dentro destas práticas de manejo, com atuação direta e como antagonistas contra patógenos que causam doenças radiculares e fitonematoides (SOARES, 2006).

Santin (2008) supõe que isolados dos fungos *Trichoderma harzianum* (Rifai) e o *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom, apresentam mecanismos de ação que podem ser usados efetivamente no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne*, causadores de galhas. E ainda que o uso consorciado destes micro-organismos podem ser eficientes no controle de nematoides de galhas. Nunes (2008) relataram que os isolados de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus* foram patogênicos para ovos de *M. incognita* e *H. glycines* em condições de casa-de-vegetação.

A procura de alternativas para o controle de nematoides se intensificou nos últimos anos e o uso do controle biológico vem sendo considerado uma ferramenta a mais que pode proporcionar a redução da população de fitonematoides para o nível abaixo do dano econômico. Contudo é muito importante sempre realizar um manejo visando o controle das doenças radiculares e dos fitonematoides. Devido as suas características os fungos *Trichoderma* sp. e *P. lilacinus* podem se complementar formando uma proteção ao sistema radicular e de redução de fungos e nematoides no solo, se encaixando perfeitamente junto a outras estratégias de manejo.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos identificar quais as espécies de fitonematoides que ocorrem e avaliar a eficiência dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus* no controle de fitonematoides na cultura da soja e, na região de Chapadão do Sul-MS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em condições de campo, no município de Chapadão do Sul-MS, durante as safras 2011/2012 e 2012/2013 na área experimental da Fundação Chapadão, localizada no município de Chapadão do Sul, Estado do Mato Grosso do Sul, às margens da rodovia BR 060 Km 11, situada na latitude: 18°41'33" sul e longitude: 52°40'45" oeste. O solo da região é o Latossolo vermelho profundo, com clima tropical úmido (com estação chuvosa no verão e seca no inverno), temperatura anual 13 a 28°C (medidas diárias), com precipitações médias de 1.850mm anuais (FUNDAÇÃO CHAPADÃO, 2013).

A semeadura foi efetivada com o solo úmido (Figura 1), em condições ideais de plantio da semente e para a sobrevivência de micro-organismos que vivem no solo durante os anos agrícolas 2011/2012 e 2012/2013. A cultivar de soja semeada foi a NA 7255 RG, escolhida por ser suscetível a diferentes espécies de fitonematoides.

Os produtos foram inoculados à semente momentos antes do plantio, sendo que a semeadura realizada em área infestada por nematoides, com semeadora a vácuo, com 7 linhas e parcelas de 10 m de comprimento, possibilitando assim se aproximar ao máximo das condições de campo encontradas por produtores e ao mesmo tempo condições que possibilitem a sobrevivência de micro-organismos.

Os tratamentos foram compostos pela testemunha (1), sem a aplicação dos fungos, porém com aplicação do inseticida químico Cruiser 350[®] para controle de insetos e do fungicida Maxim XL[®] para o controle de fungos fitopatogênicos via semente (Figura 2), um tratamento com nematicida químico marca comercial Avicta Completo[®] (2), tratamento somente com o fungo *P. lilacinus* (3), tratamento com nematicida químico associado ao *P. lilacinus* (4), um tratamento com a associação dos fungos *Paecilomyces lilacinus* e *Trichoderma harzianum* (5) (Figura 3), e por último a associação dos bioinseticidas ECOTRICH[®] e NEMAT[®] e nematicida químico (6), descritos na Tabela 1.

Todos os produtos fitossanitários foram aplicados via tratamento de sementes e semeados ao mesmo dia. Os bioinseticidas foram cedidos pela empresa Ballagro Agro tecnologia Ltda., sendo que o produto ECOTRICH[®] possui como ingrediente ativo o isolado IBFL006 do fungo *Trichoderma harzianum* e NEMAT[®] possui como ingrediente ativo o isolado PAE 10 de *Paecilomyces lilacinus*, ambos vendidos comercialmente e registrados no MAPA.

Tabela 1. Tratamentos e doses utilizadas no controle de Nematoides. UFMS. Chapadão do Sul-MS.

Tratamento	Dose (ml.pc./100 kg de sementes)	Dose (gr.pc.ha⁻¹)	Estádio de Aplicação
1- Testemunha	-	-	-
2- Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+Maxim XL[®]	100+200+100	-	TS
3- Nemat[®]	-	50	TS
4- Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+Maxim XL[®] + Nemat[®]	100+200+100	50	TS
5- Nemat[®]+Ecotrich[®]	-	50+20	TS
6- Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+Maxim XL[®] + Nemat[®] +Ecotrich[®]	100+200+100 -	- 50+20	TS

p.c. Produto Comercial. TS Tratamento de sementes.

As avaliações foram compostas por amostragens coletadas em dois pontos nas linhas centrais das parcelas e posterior análises nematológicas de solo e raiz aos 32 e 36 dias após a semeadura (DAS), na safra 2011/12 e aos 60 e 87DAS, na safra 2012/13, em todas as parcelas avaliadas, e assim obtemos as espécies de fitonematoides encontradas na área e parâmetro da população de fitonematoides inicial e final. As análises nematológicas foram realizadas pela Fundação Chapadão, a qual está credenciada junto ao MAPA. O método utilizado para a extração dos nematoides do solo foi o de flutuação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins, 1964), e para raízes utilizou-se a metodologia de Coolen e D'Herde (1972), com adição de caulin.

Os nematoides após serem analisados foram levados ao Laboratório de Entomologia da UFMS/CPCS para verificação da patogenicidade, e assim obter confirmação da mortalidade dos nematoides com os fungos. Foram colocadas alíquotas de 1 ml da solução contendo os nematoides no interior de 10 placas de Petri de 9cm de diâmetro contendo meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) por parcela analisada e para cada tratamento. Após 7 dias da inoculação observou-se se ocorreu o crescimento dos fungos e a presença de nematoides mortos e ou moribundos, confirmando assim a patogenicidade dos fungos aos nematoides.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 06 tratamentos e 04 repetições por tratamento. As parcelas foram compostas por 7 linhas com espaçamento entre linhas de 0,45m, com tamanho de 3,60m x 10m, totalizando 36 m².

Os dados da quantidade de ovos e juvenis foram submetidos à análise de variância, após serem transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$ e a comparação das médias de ovos e juvenis por tratamento foram obtidas pelo teste de Skott-knot a 5% de probabilidade, além do rendimento de grãos.

Figura 1: Instalação dos experimentos. Chapadão do Sul-MS, safras 2011/12, e 2012/13.



Figura 2: Dosagem dos produtos e tratamento das Sementes. Chapadão do Sul-MS, safras 2011/12 e 2012/13.



Figura 3: Fungos utilizados nos experimentos. Chapadão do Sul-MS.



2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostras analisadas de solo e raiz aos 32 e 36 dias após a semeadura (DAS), na safra 2011/12 e aos 60 e 87DAS, na safra 2012/13, foram encontradas as espécies de fitonematoides *Heterodera glycines* e *Pratylenchus brachyurus*, sendo este o de maior expressão conforme as análises.

Todos os tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas com relação às análises nematológicas aos 32 e 60 dias após a semeadura durante a safra 2011/2012, para ovos e juvenis de *P. brachyurus* presentes no solo, respectivamente (Tabela 2). Também se verificou que os níveis populacionais baixos, conforme valores propostos por Koenning (2007), onde se considera para o nematoide *P. brachyurus* entre 0-50 nematoides/100 mL de solo, um nível populacional baixo, entre 50-100 nematoides/100 mL de solo nível médio, e níveis populacionais maiores que 100 nematoides/100 mL de solo nível alto.

Tabela 2. Análise nematológica, ovos e juvenis de *Pratylenchus brachyurus* presentes no solo, aos 32/60 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2011/2012.

Tratamentos	Ovos no solo		Redução	Juvenis no solo		Redução (%)
	32DAS	60DAS	(%)	32DAS	60DAS	(%)
1- Testemunha	0 a	5 a	500	5 a	30 a	500
2- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +MaximXL [®]	13 a	10 a	23	13 a	50 a	284
3- <i>P. lilacinus</i>	0 a	11 a	1100	0 a	14 a	1400
4- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i>	5 a	5 a	0	0 a	38 a	3800
5- <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	5 a	11 a	120	20 a	16 a	20
6- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	0 a	6 a	600	0 a	14 a	1400
CV %	106,62	99,43		126,03	46,51	

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si. Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 0,5$.

Com relação a presença de ovos e juvenis de *P. brachyurus* nas raízes durante a safra 2011/2012, (Tabela 3), não houve diferença significativa entre os

tratamentos. Porém verificou-se que as menores populações foram observadas nos tratamentos com *P. lilacinus*, *P. lilacinus* e *T. harzianum* e no tratamento com a associação dos fungos *P. lilacinus* e *T. harzianum* e nematicida químico, aos quais reduziram as populações deste nematoide quando se compara as análises aos 32 e 60 dias após a semeadura, diferentemente dos demais tratamentos que mantiveram e até aumentaram as populações de *P. brachyurus*. Esses resultados corroboram com Windham et al. (1989) em que relataram a redução na produção de ovos de *M. arenaria* após a aplicação de *T. harzianum* e *T. koningii*, em casa de vegetação. Spiegel; Chet (1998) e Sharon et al. (2001) relataram que em testes de casa de vegetação *T. harzianum* causou redução do número de ovos de *M. javanica*.

Tabela 3. Análise nematológica, ovos e juvenis de *Pratylenchus brachyurus* presentes nas raízes, aos 32 /60 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safras 2011/2012.

Tratamentos	Ovos nas raízes		Redução	Juvenis nas raízes		Redução
	32DAS	60DAS	(%)	32DAS	60DAS	(%)
1- Testemunha	2010 a	1638 a	18	4693 a	4920 a	4
2- Avicta+Cruiser 350 FS +MaximXL	1553 a	1490 a	4	4033 a	3640 a	9
3- <i>P. lilacinus</i>	785 a	533 a	-32	3185 a	2313 a	-27
4- Avicta+Cruiser 350 FS +MaximXL+ <i>P. lilacinus</i>	1645 a	2183 a	32	4690 a	4658 a	0,6
5- <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	3248 a	990 a	-69	6985 a	3081 a	-55
6- Avicta+Cruiser 350 FS +MaximXL+ <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	2183 a	808 a	-62	5693 a	2310 a	-59
CV %	46,8	44,37		33,61	35,50	

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Skott-Knot, 5%).
Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 0,5$.

Porém, em todos os tratamentos os níveis populacionais foram considerados altos, conforme proposto por Koenning (2007), onde se considera para o nematoide *P. brachyurus* entre 0-800 nematoides/10g de raízes, um nível populacional baixo, entre 800-1600 nematoides/10g de raízes nível médio, e níveis populacionais maiores que 1600 nematoides/10g de raízes nível alto, aos quais não diferiram estatisticamente.

Assim como ocorreu na safra 2011/2012, os tratamentos não apresentaram diferenças significativas com relação às análises nematológicas aos 36 e 87 dias após a semeadura durante a safra 2012/2013, para ovos e juvenis de *P. brachyurus* presentes no solo, respectivamente (Tabela 4). Verificou-se que em todos os tratamentos houve um aumento no número de ovos e nas populações de *P. brachyurus* presentes no solo, Todos os tratamentos apresentaram populações próximas ou acima de 100 nematoides/100 mL de solo, sendo considerados níveis altos conforme Koenning (2007).

Tabela 4. Análise nematológica, ovos e juvenis de *Pratylenchus brachyurus* presentes no solo, aos 36/87 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra e 2012/2013.

Tratamentos	Ovos no solo		Redução	Juvenis no solo		Redução
	36 DAS	87DAS	(%)	36DAS	87DAS	(%)
1- Testemunha	20,0 a	57,5 a	18	5,0 a	160,0 a	3200
2- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®]	12,5 a	30,0 a	140	7,5 a	97,5 a	1200
3- <i>P. lilacinus</i>	45,0 a	290,0 a	625	15,0 a	1003,8 a	6592
4- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i>	15,0 a	17,5 a	16	5,0 a	157,5 a	3050
5- <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	5,0 a	55,0 a	1000	0,0 a	105,0 a	10500
6- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	10,0 a	40,0 a	300	5,0 a	231,3 a	4526
CV %	84,08	123,71		121,73	101,24	

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Skott-Knot, 5%). Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 0,5$

Com relação à presença de ovos e juvenis de *P. brachyurus* nas raízes (Tabela 5), durante a safra 2012/2013, aos 36 dias após a semeadura a quantidade ovos e juvenis de *P. brachyurus*, foram menores no tratamento testemunha do que para os demais tratamentos, o que se assemelha às análises aos 87 dias, em que apenas o tratamento com *P. lilacinus* apresentou número inferior para ovos e juvenis de *P. brachyurus*, porém mesmo sendo uma população menor não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos. Jatala (1986) constatou, em laboratório, elevada eficácia de *P. lilacinus* em infectar e destruir ovos de *M. incognita*. As

populações de nematoides *P. brachyurus* aos 36 dias em todos os tratamentos apresentaram níveis médios, ou seja, entre 800-1600 nematoides/10 g de raízes e aos 87 dias os níveis populacionais aumentaram, ultrapassando os limites, propostos por Koenning (2007), tornando-os altos, ou seja, acima de 1600 nematoides/10 g de raízes.

Tabela 5. Análise nematológica, ovos e juvenis de *Pratylenchus brachyurus* presentes nas raízes, aos 36/87 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2012/2013.

Tratamentos	Ovos nas raízes		Redução (%)	Juvenis nas raízes		Redução (%)
	36DAS	87DAS		36DAS	87DAS	
1- Testemunha	670,0 a	1100 a	64	997,5 a	2620,0 a	162
2- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®]	993,8 a	1805 a	81	1097,5 a	3432,5 a	212
3- <i>P. lilacinus</i>	831,3 a	797 a	-4	1275,0 a	1830,0 a	43
4- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i>	832,5 a	1420 a	70	1585,0 a	3112,5 a	96
5- <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	1057,5 a	1610 a	52	1243,8 a	2842,5 a	128
6- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	1230,0 a	1347 a	9	1280,0 a	3462,5 a	170
CV %	25,59	43,03		17,52	27,22	

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Skott-Knot, 5%). Dados transformados em $(x+k)^{1/2}$ com $k = 0,5$.

As populações de *Heterodera glycines* presentes no solo nas raízes, na safra 2011/2012, aos 32 dias após a semeadura apresentaram níveis populacionais baixos, aos quais não diferiram entre si. Esses dados corroboram com Nunes (2008) conduzindo ensaios realizados em condições de campo, relataram que somente Aldicarb[®] se mostrou eficiente na redução do número de juvenis no solo e de juvenis e ovos de *M. incognita* e *H. glycines* nas raízes de plantas de soja. *P. chlamydosporia* foi o agente mais efetivo na redução do número de cistos de *H. glycines* no solo, tendo também os tratamentos com *P. lilacinus* e Aldicarb[®] reduzido significativamente estes inóculos.

Tabela 6. Análise nematológica de *Heterodera glycines* presentes no solo e nas raízes, aos 32/60 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2011/2012.

Tratamentos	<i>H. glycines</i> no solo		Redução	<i>H. glycines</i> nas raízes		Redução
	32DAS	60DAS	(%)	32DAS	60DAS	(%)
1- Testemunha	5 a	0 a	-100	0 a	130 a	13000
2- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®]	5 a	7 a	40	0 a	47 a	4700
3- <i>P. lilacinus</i>	0 a	10 a	1000	0 a	40 a	4000
4- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i> [®]	0 a	10 a	1000	50 a	43 a	-14
5- <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	0 a	4 a	400	0 a	40 a	4000
6- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	0 a	0 a	0	0 a	55 a	5500
CV %	111,8	97,08		216,63	82,67	

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Skott-Knot, 5%). Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 0,5$.

Bordallo et al. (2002) relataram que como os fitonematoides geralmente atacam as raízes das plantas, a habilidade de fungos nematófagos colonizar raízes é uma grande vantagem no combate aos nematoides se estes fungos apresentarem bom potencial de controle. Segundo estes autores, a resposta das células das raízes à colonização tem profundas implicações no desempenho destes fungos como agentes de controle.

Aos 60 dias após a semeadura houve um aumento na população de *H. glycines* nas raízes em alguns tratamentos, principalmente na testemunha, ao qual teve um aumento de 130%, com exceção ao tratamento Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+MaximXL[®] associado a *P. lilacinus* ao qual reduziu a população de *H. glycines* (Tabela 6).

As populações de *H. glycines* presentes no solo, aos 36 e 87 dias após a semeadura durante a safra 2012/2013 aumentaram em níveis altos em relação à safra anterior, aos quais em todos os tratamentos houve um aumento deste nematoide. Com relação presença nas raízes houve um aumento nas populações de *H. glycines* em alguns tratamentos, com exceção ao tratamento Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+MaximXL[®] associado a *P. lilacinus* ao qual reduziu a população de *H. glycines*

nas raízes, sendo esse número inferior à testemunha, porém em ambas as amostragens no solo e nas raízes, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7. Análise nematológica de *Heterodera glycines* presentes no solo e nas raízes, aos 36/87 dias após semeadura da soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safra 2012/2013.

Tratamentos	<i>H. glycines</i> no solo		Redução	<i>H. glycines</i> nas raízes		Redução
	36DAS	87DAS	(%)	36DAS	87DAS	(%)
1- Testemunha	60,0 a	392,5 a	554	47,5 a	67,5 a	42
2- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +MaximXL [®]	30,0 a	217,5 a	625	60,0 a	350,0 a	483
3- <i>P. lilacinus</i>	55,0 a	215,0 a	290	122,5 a	230,0 a	87
4- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i>	22,5 a	185,0 a	722	40,0 a	35,0 a	-12
5- <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	17,5 a	175,0 a	900	73,8 a	75,0 a	1,6
6- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	35,0 a	315,0 a	800	80,0 a	287,5 a	259
CV %	38,66	48,74		52,95	61,36	

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Skott-Knot, 5%). Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 0,5$.

Durante a safra 2011/2012, a maior produtividade foi verificada para o tratamento com *P. lilacinus*, produzindo 60,9 sc/ha, sendo esta 5,1 sc/ha a mais que o tratamento testemunha; já a menor produtividade foi verificada no tratamento Avicta[®] associado a *P. lilacinus* e *T. harzianum*, produzindo 53,7 sc/ha, sendo esta 2,1 sc/ha a menos que o tratamento testemunha (Tabela 8). A associação de *P. lilacinus* com Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+Maxim XL[®] e com Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+Maxim XL[®]+ *T. harzianum*, conferiu a estes tratamentos as menores produtividades.

Na safra 2012/13, as análises dos números absolutos mostraram uma maior produtividade para o tratamento com *P. lilacinus* + *T. harzianum*, aos quais produziram 61,8 sc/ha de soja, ou seja, houve um acréscimo de 2,8 sc/ha em relação ao tratamento testemunha, seguidos do tratamento Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+Maxim XL[®] associados *P. lilacinus* e *T. harzianum* ao qual produziu 60,2 sc/ha,

diferentemente da safra anterior ao qual este tratamento foi o que proporcionou a menor produtividade (Tabela 8).

Tabela 8. Produtividade (sc.ha⁻¹) e retorno financeiro de soja em função dos diferentes tratamentos de sementes. Chapadão do Sul-MS, safras 2011/12 e 2012/13.

Tratamentos	Custo R\$	Sc/ha 2011/12	Lucro R\$	Sc/ha 2012/13	Lucro R\$
1- Testemunha	0,00	55,8 a	0,00	59,0 a	0,00
2- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®]	214,00	58,5 a	-52,00	59,1 a	-208,00
3- <i>P. lilacinus</i>	55,00	60,9 a	251,00	57,5 a	-55,00
4- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i>	269,00	56,9 a	-203,00	57,8 a	-269,00
5- <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	68,00	58,3 a	82,00	61,8 a	100,00
6- Avicta [®] +Cruiser 350 FS [®] +Maxim XL [®] + <i>P. lilacinus</i> + <i>T. harzianum</i>	282,00	53,7 a	274,00	60,2 a	-202,00
CV %		4,16		4,58	

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (Skott-Knot, 5%). Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 0,5$.

O tratamento com *P. lilacinus* que na safra 2011/2012 apresentou as menores populações de *P. brachyurus* e a maior produtividade e na safra 2012/2013, proporcionou a menor produtividade, porém população desta espécie de nematoide inferior aos demais tratamentos, sendo difícil mensurar se uma população com níveis altos, ou seja, acima de 1600 nematoides/10 g de raízes, como o observado para o tratamento com *P. lilacinus* isoladamente, pode causar danos ou não. Santiago et al. (2006), em testes com diferentes isolados de *P. lilacinus*, verificaram que a maioria destes isolados promoveram a redução do número de galhas de *M. paranaensis* em tomateiros. Lara et al. (1996) demonstraram que *P. lilacinus* reduziu significativamente a população de *M. incognita* no solo e nas raízes de tomateiro e aumentou a produtividade. Também Freitas et al. (1999) conseguiu redução do número de galhas de *M. javanica* em tomateiro com o uso de mudas com o substrato colonizado por *P. lilacinus*.

Os tratamentos com *P. lilacinus* + *T. harzianum* e Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®]+Maxim XL[®] associados a *P. lilacinus* e *T. harzianum*, apresentaram níveis populacionais de *P. brachyurus* ainda maiores, porém com produtividades superiores aos demais tratamentos, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, sendo assim neste caso difícil mensurar os danos causados pelos nematoides presentes nas análises (Tabela 8).

Portanto, dano é qualquer redução na qualidade e/ou quantidade da produção. Esta por sua vez é o produto mensurável de valor econômico de uma cultura. Os danos causados por organismos fitopatogênicos tais como os nematoides, relacionam-se diretamente com a densidade populacional do patógeno ou, indiretamente com a quantidade ou intensidade dos sintomas causados às plantas (BERGAMIM FILHO 1995).

De maneira geral, no presente trabalho, não podemos afirmar se o nematoide foi controlado, no entanto, ocorreu retorno econômico em relação aos custos de cada tratamento, justificados pela produtividade obtida. Uma vez que quando se compara o tratamento químico com Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®] +Maxim XL[®], este teve um custo de aproximadamente R\$ 214,00/ha, enquanto o custo do tratamento com *P. lilacinus*, foi de R\$ 55,00/ha e a associação de *T. harzianum* e *P. lilacinus* obteve um custo de R\$ 68,00/ha, ou seja, neste caso o custo com o tratamento químico dos nematoides foi três vezes maior que em relação ao controle biológico de nematoides.

Como na safra 2011/2012 a maior produtividade foi verificada para o tratamento com *P. lilacinus*, produzindo 60,9 sc/ha, sendo esta 5,1 sc/ha a mais que o tratamento testemunha, e o custo da saca de soja esteve em torno R\$ 60,00, foram pagos os custos com o tratamento biológico, obtendo um retorno financeiro de R\$251,00, o mesmo não foi observado com o tratamento com Avicta[®]+Cruiser 350 FS[®] +Maxim XL[®] ao qual não pagou os custos do tratamento, trazendo ainda um prejuízo financeiro de R\$ 52,00. Na safra 2012/13, a maior produtividade foi verificada no tratamento com *P. lilacinus* + *T. harzianum*, aos quais produziram 61,8 sc/ha de soja, ou seja, teve um acréscimo de 2,8 sc/ha em relação ao tratamento testemunha, considerando o preço da saca de soja o mesmo da safra anterior, também pagou o custo do tratamento biológico e entregou um retorno financeiro de R\$ 100,00, e assim como na safra anterior o tratamento químico Avicta[®]+Cruiser

350 FS[®] +Maxim XL[®], não teve retorno financeiro, deixando um prejuízo maior ainda.

4. CONCLUSÕES

Nas condições de campo que os trabalhos foram conduzidos, com relação as amostras analisadas de solo e raiz aos 32 e 36 dias após a semeadura (DAS), na safra 2011/12 e aos 60 e 87DAS, na safra 2012/13, foram encontradas as espécies de fitonematoides *Heterodera glycines* e *Pratylenchus brachyurus*, sendo este o de maior expressão conforme as análises.

Na safra 2011/2012 a eficácia aos 32 e 60 dias após a semeadura o tratamento com *P. lilacinus* em números absolutos apresentou os menores índices de nematóides *P. brachyurus* e *H. glycines* nas raízes e no solo. A análise dos números absolutos mostrou uma maior produtividade para o tratamento com *P. lilacinus*. A menor produtividade foi verificada no tratamento Avicta[®]+Cruiser[®]+Maxim[®]+ *P. lilacinus*+*T. harzianum*.

Na safra 2012/13, a eficácia aos 36 e 87 dias após a semeadura o tratamento com *P. lilacinus* em números absolutos apresentou os menores índices de nematóides *P. brachyurus* nas raízes e no solo, com relação a *H. glycines*, os menores índices foram verificados nos tratamentos com *P. lilacinus*, Avicta[®]+Cruiser[®]+Maxim[®]+ *P. lilacinus* e *P. lilacinus*+*T. harzianum*, análises dos números absolutos mostraram uma maior produtividade para o tratamento com *P. lilacinus* + *T. harzianum*.

A aplicação sequencial, durante as safras 2011/12 e 2012/13 de *P. lilacinus* isoladamente, *P. lilacinus*+ *T. harzianum* e a associação com os produtos químicos reduziram as populações dos nematoides *P. brachyurus* e *H. glycines*, aos quais apresentaram redução da população de nematoides, devido ao crescimento da atividade biológica desses fungos no solo, sendo assim a associação de produtos químicos e biológicos no manejo de nematoides no solo, pode ser uma estratégia para proteção do sistema radicular das plantas, se encaixando perfeitamente junto a outras estratégias de manejo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. IN: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia. Princípios e Conceitos**. 3 ed, v.1 São Paulo: Agronômica Ceres, p 717-728, 1995.

BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia. Princípios e Conceitos**. 3 ed, v.1 São Paulo: Agronômica Ceres, p 717-728, 1995.

BORDALLO, J. J.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; ASENSIO, L. Colonisation of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. **New Phytologist**, v. 154, p. 491-499, 2002.

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

COOK, R.J.; BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. **The American Phytopathology Society**, St Paul, p 539, 1983.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo Sustentável de Fitonematoides**. Viçosa, MG, Ed. UFV, 2012. 306p.

FERRAZ, S.; SANTOS, M.A. Controle Biológico de fitonematoides pelo uso de fungos. IN: LUZ, W.C. (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: EMBRAPA, 1995. p. 283-314.

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

FUNDAÇÃO CHAPADÃO. Fundação de apoio a pesquisa agropecuária de Chapadão do Sul. **Algodão, milho safrinha e culturas de inverno 2012/2013**. Chapadão do Sul, 2013. 162p.

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

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Sant Paul, v. 48, p. 629, 1964.

KOENNING, S.R. Population biology. Pp. 73-88. In D.P. Schmitt, J.A. Wrather, and R.D. Riggs eds. *Biology and Management of Soybean Cyst Nematode*, Second Edition. Schmitt and Associates of Marceline: Marceline, MO. 2004.

LARA, J.; ACOSTA, N.; BETANCOURT, C.; VINCENTE, N.; RODRÍGUEZ, R. Biological control of *Meloidogyne incognita* in tomato in Puerto Rico. **Nematropica**, Auburn, v. 26, p. 143-152, 1996.

NUNES, H.T. **Agentes microbianos no controle de nematoides e fungos fitopatogênicos de soja e sua compatibilidade com agroquímicos**. UNESP, JABOTICABAL, SP, 2008 (Tese de doutorado).

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, 2006.

SANTIN, R.C.M. **Potencial do uso de *Trichoderma* sp. e *Paecilomices lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris***. UFRS- Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, 2008. 92 p (Tese de doutorado) IN: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/15383>. Acesso em 04/11/2013.

SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I. HERRERA-ESTRELLA, A.A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v.91, p.687-693, 2001.

SPIEGEL, Y.; CHET, I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. **Integrated Pest Management Reviews**, v.3, p.169-175, 1998.

SOARES, P. L. M. **Estudo do controle biológico de fitonematoides com fungos nematófagos**. 2006. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2006.

WINDHAM, G.L.; WINDHAM, M.T.; WILLIAMS, W.P. Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. **Plant Disease**, v.73, p.493-495, 1989.

CAPÍTULO 2 - Efeito de Produtos Fitossanitários Químicos Sobre os Fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus*.

RESUMO

Os fungos encontrados na rizosfera e no solo como *Trichoderma harzianum* (Rifai) e *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom são importantes antagonistas contra doenças radiculares e nematoides fitopatogênicos. O objetivo do trabalho foi testar a compatibilidade dos fungos *T. harzianum* isolado IBFL006 e *P. lilacinus* isolado PAE 10, com produtos fitossanitários químicos usualmente utilizados no tratamento de sementes em plantios comerciais de soja. Foram testados os produtos químicos Avicta[®] (nematicida e inseticida), Cruiser[®] (inseticida), MaximXL[®] (fungicida), ambos em suas doses recomendadas. O meio de cultura adicionado aos produtos fitossanitários químicos foi vertido em placas de Petri (9 cm de diâmetro). Os fungos foram inoculados com auxílio de uma alça de platina em três pontos equidistantes, totalizando 9 colônias de cada fungo. As placas foram vedadas com filme plástico (pvc) e mantidas em B.O.D. a 25±1°C de temperatura, 70±10% de umidade relativa e 12 horas de fotofase, durante 10 dias. Para o tratamento testemunha foi vertido nas placas de Petri o meio de cultura BDA sem a adição de produtos químicos. Os testes de compatibilidade foram realizados *in vitro*, avaliando-se o crescimento vegetativo, a esporulação e a germinação dos conídios em relação à testemunha. Os produtos químicos Avicta, Cruiser e MaximXL, permitiram o crescimento de colônias dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus*. Os produtos Avicta, Cruiser e MaximXL foram classificados através do índice biológico como compatíveis ao fungo *T. harzianum*. Com relação ao fungo *P. lilacinus*, os produtos Cruiser e MaximXL foram classificados como compatíveis, porém o produto químico Avicta foi classificado como moderadamente tóxico, sendo que este produto químico pode ter algum efeito sobre o fungo *P. lilacinus*.

Palavras-chave: Fungos, Compatibilidade, Índice Biológico.

CHAPTER 2 - Effect of Plant Protection Chemicals About the fungi *Trichoderma harzianum* and *Paecilomyces lilacinus*.

ABSTRACT

The fungi in the rhizosphere and soil as *Trichoderma harzianum* (Rifai) and *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom are important antagonists against pathogenic nematodes and root diseases. The aim of this study was to test the compatibility of the isolated fungi *T. harzianum* IBFL006 and *P. lilacinus* isolate PAE 10 with pesticides commonly used in seed treatment in commercial crops of soybeans. We tested the following chemicals Avicta[®] (nematicide and insecticide), Cruiser[®] (insecticide), MaximXL[®] (fungicide), both in their recommended doses. The culture medium the added chemical products were poured into petri dishes (9 cm diameter). The fungi were inoculated with the aid of a platinum loop in three equidistant points, totaling 9 colonies of each fungus. The plates were sealed with plastic film (PVC) and maintained in BOD at 25 ± 1 ° C temperature, $70 \pm 10\%$ RH and 12 h photophase for 10 days. For the control treatment were poured in the Petri dishes PDA culture medium without the addition of chemicals. The compatibility tests were performed in vitro by comparing changes in vegetative growth, sporulation and spore germination compared to the control. The chemicals Avicta[®], Cruiser[®] and Maxim XL[®], allowed the growth of colonies of fungi *T. harzianum* and *P. lilacinus*. Products Avicta[®], Cruiser[®] and Maxim XL[®] were classified by biological index as compatible to the fungus *T. harzianum*. With regard to the fungus *P. lilacinus* products Cruiser[®] and Maxim XL[®] were classified as compatible, but the chemical Avicta[®] was classified as moderately toxic, and this chemical can have some effect on the fungus *P. lilacinus*.

Keywords: Fungi, Compatibility, Biological Index.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos encontrados na rizosfera e no solo como o *Trichoderma harzianum* (Rifai) e o *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom são importantes antagonistas contra doenças radiculares e nematoides fitopatogênicos. O gênero *Trichoderma* tem potencial de antagonismo, sendo um dos mais pesquisados e estudados. Sua eficiência tem sido demonstrada em trabalhos de laboratório, casa de vegetação e a campo, como agente biocontrolador de patógenos em diferentes situações (MELO, 1991). *P. lilacinus* é um fungo parasito de ovos e cistos e trata-se de um oportunista com muito pouca especificidade de hospedeiros (GOETTEL et al., 2001).

Santin (2008) supõe que esses fungos apresentam mecanismos de ação que podem ser usados efetivamente no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne*, causadores de galhas, e que o uso consorciado destes microrganismos possa ser eficiente no controle de nematoides de galhas.

A conservação e a utilização de agentes de controle biológico dentro dos agroecossistemas é uma das principais estratégias adotadas no manejo integrado de pragas e doenças. Em ambos os casos deve-se conhecer a ação dos produtos fitossanitários de origem química sobre os microrganismos entomopatogênicos e, em seguida determinar sua compatibilidade. O controle integrado, com a utilização de produtos fitossanitários seletivos desde inseticidas, herbicidas e fungicidas em conjunto com os fungos entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico, pode ser uma estratégia segura e eficiente (LOUREIRO et al., 2002).

Segundo Alves et al. (1998), a ação dos produtos fitossanitários sobre os inimigos naturais pode variar em função de cada espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das dosagens utilizadas, sendo verificado efeitos sobre o crescimento vegetativo, a viabilidade e a conidiogênese dos fungos entomopatogênicos e outros fungos, podendo ocorrer alterações de sua composição genética, acarretando modificações na sua virulência.

Existem evidências de que produtos químicos utilizados na proteção das culturas podem ter efeitos antagônicos, nulos ou sinérgicos sobre a atividade de fungos utilizados no controle biológico no agrossistema (BENZ, 1987). E que muitos dos produtos fitossanitários utilizados em culturas agrícolas podem ser utilizados em conjunto com produtos de origem biológica, sem que haja interferência na biologia do fungo, impedindo com que estes completem o seu ciclo ou tenham a sua persistência no ambiente reduzida, pela toxicidade (incompatibilidade) de moléculas

utilizadas nas formulações químicas desses produtos (SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2002).

A preservação dos fungos como agentes de controle microbianos de ocorrência natural é essencial para evitar ressurgência ou surtos de pragas. Também, a compatibilidade elevada com agroquímicos pode auxiliar, melhorando seu potencial como agentes de controle, porque as substâncias sintéticas podem atuar como estressantes para seus alvos, facilitando a infecção por fungos (SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2002).

Assim, conhecer a compatibilidade destes produtos sobre as diversas fases de desenvolvimento dos fungos é essencial em programas de manejo de pragas e doenças. A preservação da viabilidade dos conídios é de extrema importância, pois estas estruturas são as responsáveis pela sobrevivência e desenvolvimento posterior do fungo (DUARTE et al., 1992). É também importante a sua preservação, quando essas estruturas são aplicadas a campo, de modo inundativo, associado ou não a produtos fitossanitários (NEVES et al., 2001).

O objetivo do trabalho foi verificar a compatibilidade dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus*, com agroquímicos usualmente utilizados no tratamento de sementes em plantios comerciais de soja.

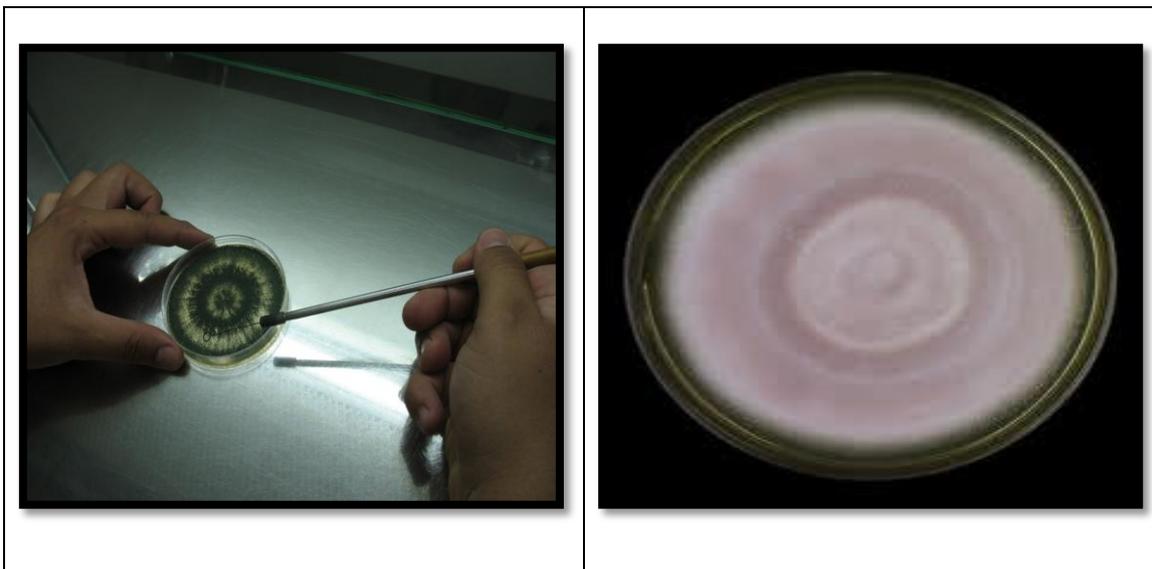
2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Chapadão do Sul. Os isolados dos fungos foram cedidos pela empresa Ballagro Agro Tecnologia Ltda., sendo utilizados IBFL006 de *Trichoderma harzianum* e o PAE 10 de *Paecilomyces lilacinus* (Figura 4), ambos conhecidos comercialmente e registrados no MAPA como ECOTRICH[®] e NEMAT[®].

Os isolados foram cultivados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), acondicionadas em estufa do tipo BOD a $27\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e fotofase de 12 h, durante 12 dias. Os agroquímicos utilizados, com diferentes ingredientes ativos, foram empregados em volume adequados aos ensaios e preparados proporcionalmente as recomendações de seus fabricantes (tabela 9).

Foram testados os seguintes produtos químicos: Avicta[®] (nematicida e inseticida), Cruiser[®] (inseticida), Maxim XL[®] (fungicida).

Figura 4 - Placas de Petri contendo colônias de *Trichoderma harzianum* (A) e *Paecilomyces lilacinus* (B)



A

B

Tabela 9. Produtos fitossanitários utilizados no tratamento de sementes de soja para o controle de nematoides, insetos e fungos fitopatogênicos na cultura da soja.

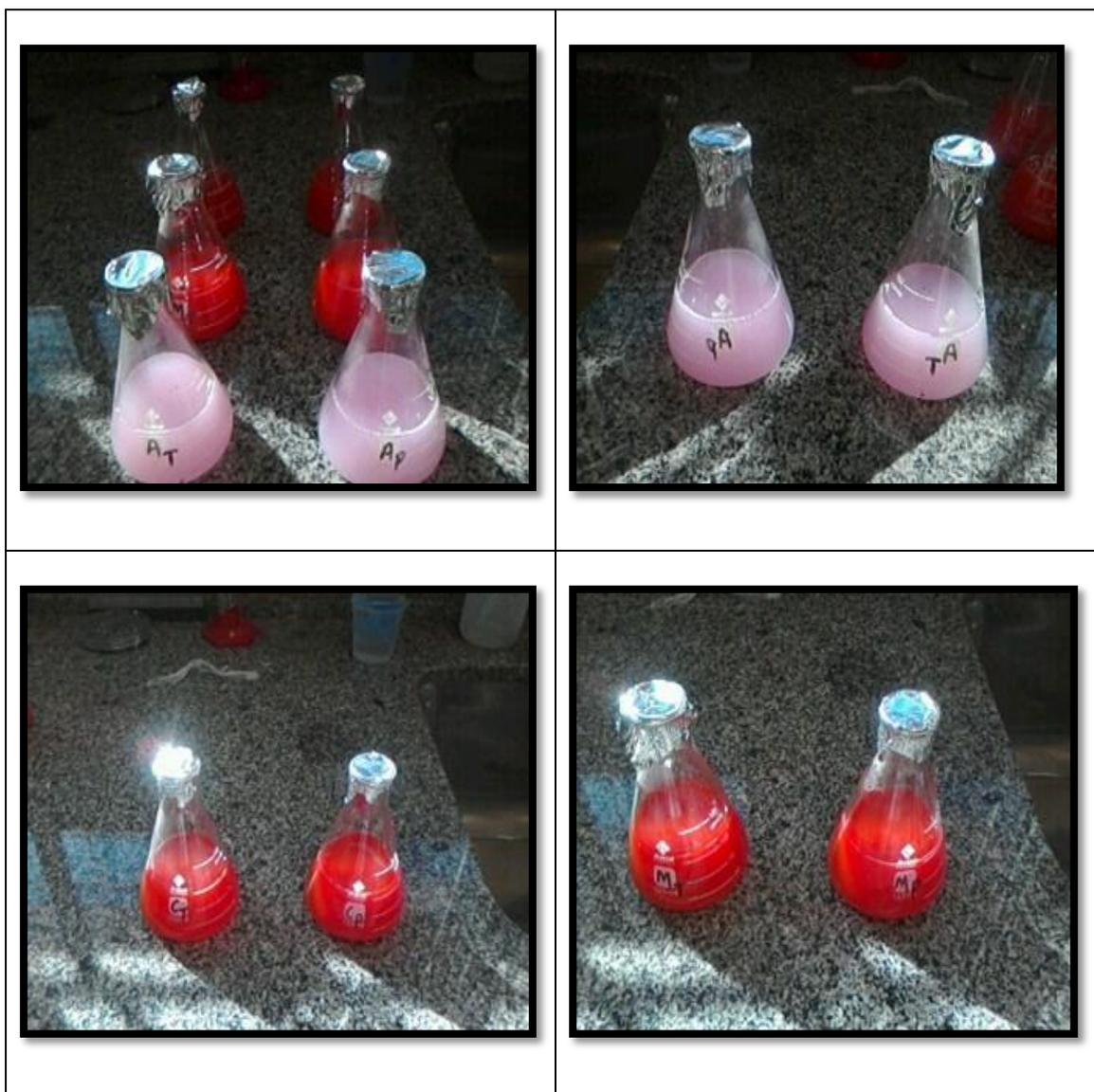
Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Tipo Formulação	Dose	Grupo Químico	Recomendação
Avicta[®] (Nematicida/ Inseticida)	Abamectina	FS	100mL/ 100kg sementes	Avermectinas	Nematoide-das-galhas (<i>M. incognita</i>), Nematoide das lesões radiculares (<i>P. brachyurus</i>) e Lagarta-elasma (<i>E. lignosellus</i>).
Cruiser[®] (Inseticida)	Thiametoxan	FS	200 mL/ 100kg sementes	Neonicotinóides	Cupins (<i>P. triacifer</i>), Lagarta-elasma (<i>E. lignosellus</i>) e mosca branca (<i>B. tabaci</i>) raça B.
Maxim XL[®] (Fungicida)	Fludioxonil + Metalaxil-M	SC	100L/ 100kg sementes	Fenilpirrol + Acilalaninato	Mancha Olho de Rã (<i>C. sojina</i>), tombamento (<i>R. solani</i>) e podridão-vermelha-da-raiz (<i>F. solani</i>)

FS- Suspensão concentrada para sementes. SC- Suspensão concentrada

Os testes de compatibilidade foram realizados *in vitro* comparando-se as variações do crescimento vegetativo, da esporulação e da germinação dos conídios em relação à testemunha.

Os produtos químicos, foram incorporados proporcionalmente a 200 mL do meio de cultura BDA, ainda na fase líquida à temperatura ao redor de 45°C, previamente autoclavado (Figura 5).

Figura 5 – Meio de cultura (BDA) contendo os produtos Avicta[®], Cruiser[®] e MaximXL[®] incorporados proporcionalmente ao meio de cultura BDA.



Após, a mistura foi vertida em placas de Petri (9 cm de diâmetro), em câmara asséptica. Os fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus* foram inoculados com auxílio de alça de platina em três pontos equidistantes (Figura 6), sendo as placas vedadas com filme plástico e mantidas em B.O.D. a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ de temperatura, $70\pm 10\%$ de umidade relativa e 12 horas de fotofase, durante 10 dias, conforme metodologia proposta por Alves et al. (1998). Para o tratamento testemunha foi vertido nas placas de Petri o meio de cultura BDA (sem a adição de produtos químicos) e os fungos foram igualmente inoculados como no tratamento anterior.

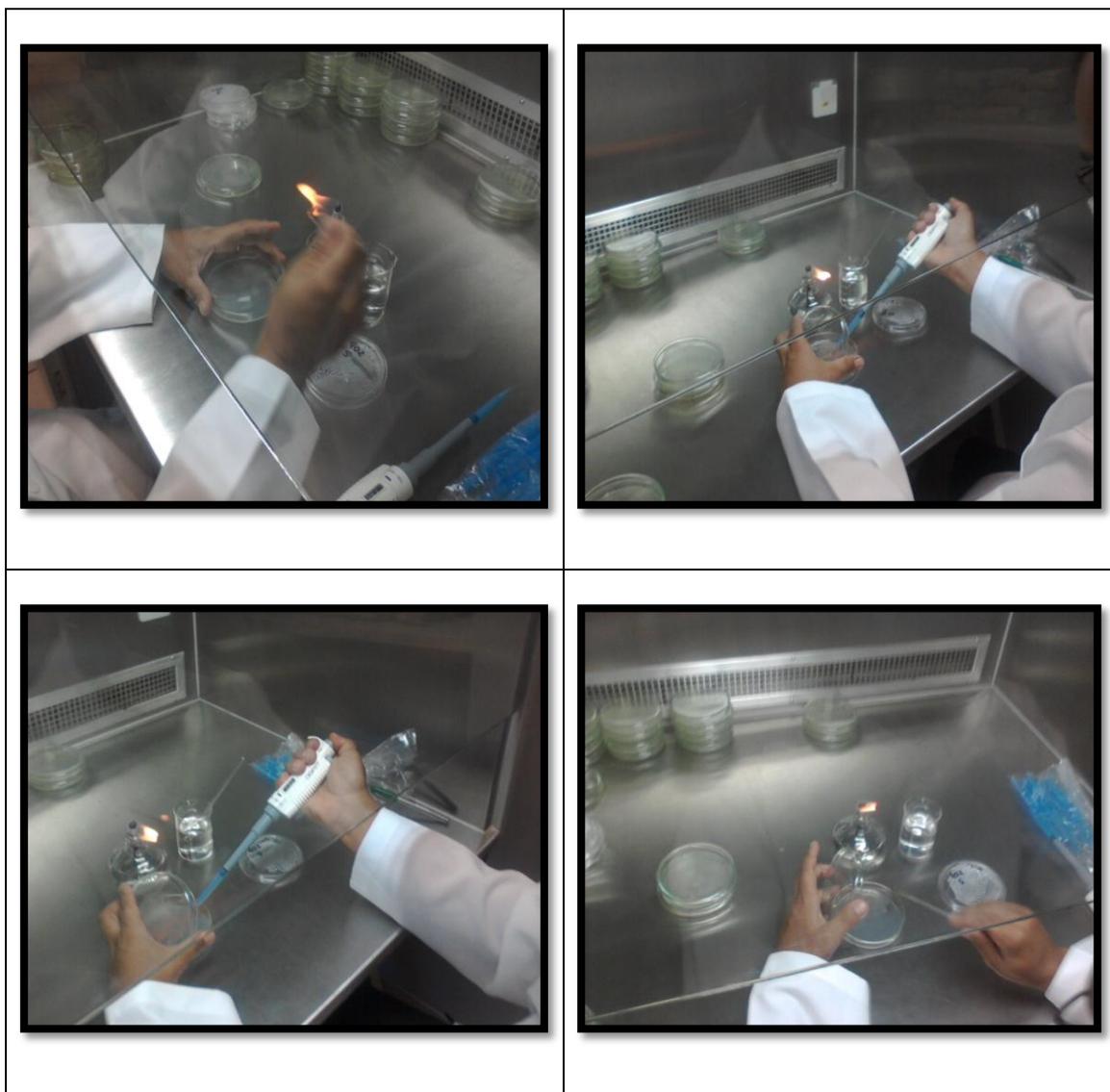
A avaliação do crescimento vegetativo foi realizada no 10º dia após a inoculação dos fungos, retirando-se um disco de 2 cm de diâmetro de cada colônia, com auxílio do vazador. Foram retirados seis anéis das nove colônias crescidas os quais corresponderam às seis repetições (ALVES et al., 1998).

A produção de conídios foi avaliada colocando-se cada disco em tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada autoclavada e Tween 80® (0,1% vv). Após a remoção dos conídios por vigorosa agitação de tubos foi realizada a contagem ao microscópio óptico em câmara de Neubauer, utilizando diluições da suspensão quando necessário. Foram realizadas quatro leituras de cada colônia.

A germinação dos conídios dos fungos foi determinada através da metodologia proposta por Neves et al. (2001) onde uma suspensão padronizada para 1×10^7 conídios mL^{-1} foi colocada em contato com os produtos fitossanitários químicos diluídos em água destilada esterilizada contendo 0,02% de Tween 80®, nas concentrações determinadas, por 2 horas. Após esse período alíquotas de 0,5 mL de cada suspensão foram retiradas e inoculadas com auxílio da alça de Drigalsky em quatro placas de Petri, contendo o meio BDA (Figura 6). As placas foram incubadas a 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 12 horas de fotofase.

Após 20 horas de incubação a porcentagem de conídios germinados foi quantificada com auxílio de microscópio óptico e cada placa de Petri foi dividida em quatro quadrantes. A viabilidade dos fungos foi realizada contando-se os conídios germinados e os conídios não germinados, estabelecendo-se uma porcentagem.

Figura 6 – Inoculação da suspensão padronizada nas placas.



Para a determinação do efeito tóxico dos produtos foi utilizada a fórmula proposta por Rossi-Zalaf al. (2008), utilizando os parâmetros crescimento vegetativo, esporulação e germinação. O modelo matemático Índice Biológico (IB) foi utilizado para a determinação da compatibilidade entre os fungos e os produtos fitossanitários químicos utilizados.

$$IB = \frac{47[CV] + 43[ESP] + 10[GER]}{100}$$

Em que:

IB: Índice Biológico;

CV: porcentagem do crescimento vegetativo com relação à testemunha;

ESP: porcentagem de esporulação com relação à testemunha;

GER: porcentagem de germinação.

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, os dados foram submetidos à análise de variância após serem transformados $(x + 0,5)^{1/2}$ e as médias comparadas pelo teste de Skott-knot a 5% de probabilidade. Para o crescimento foram utilizadas 6 repetições por tratamento, para produção de conídios 8 leituras na câmara de Neubauer para cada colônia e para a viabilidade foram utilizadas 4 placas de Petri com 4 repetições por tratamento, para os fungos inoculados.

De acordo com os valores obtidos, foi realizada uma comparação com os limites estabelecidos por Rossi-Zalaf et al. (2008) para determinação da toxicidade dos produtos estudados, como segue: 0 a 41 – tóxico; 42 a 66 – moderadamente compatível; >66 – compatível.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos Avicta[®], Cruiser[®] e Maxim XL[®], permitiram o crescimento de colônias dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus*, não ocorrendo alterações morfológicas as colônias e com relação ao número médio de conídios produzidos os resultados não diferiram estatisticamente para o fungo *T. harzianum*, mas para o fungo *P. lilacinus*, apenas com o produto químico Cruiser[®] proporcionou diferença estatística, permitindo maior crescimento em relação aos demais tratamentos (Tabela 10). Em relação ao thiametoxan, o presente trabalho comprova o resultado encontrado por Batista Filho et al. (2001) e Loureiro et al. (2002). Ambos autores utilizaram o mesmo ingrediente princípio ativo, porém fungos diferentes, possibilitando produção de conídios maior que na testemunha.

A germinação é tida como um fator fundamental para o processo de infecção do fungo, uma vez que fungos mais virulentos germinam mais rápido. Nos tratamentos com os produtos químicos Avicta[®], Cruiser[®] e Maxim XL[®] foi observado germinação dos conídios inferior a testemunha, para ambos os fungos testados, os quais diferiram entre si (Tabela 10).

Tabela 10. Número médio de conídios produzidos e germinação por colônia de *Trichoderma harzianum* (IBFL006) e *Paecilomyces lilacinus* (PAE 10).

Tratamento	<i>Trichoderma harzianum</i>		<i>Paecilomyces lilacinus</i>	
	Conídios 1x10 ⁸	Germinação (%)	Conídios 1x10 ⁸	Germinação (%)
Testemunha	43,02 a*	92,43 a	9,90 b	97,75 a
Cruiser [®]	23,47 a	62,81 b	48,48 a	63,87 b
Avicta [®]	48,57 a	4,06 c	4,08 b	3,00 c
Maxim XL [®]	24,08 a	5,00 c	10,95 b	1,00 c
CV(%)	47,39**	16,54	44,81	23,38

*Valores seguidos pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, **dados transformados em $(x+0,5)^{1/2}$.

Os tratamentos Avicta[®] e Maxim XL[®] alteraram a germinação dos fungos *T. harzianum* e *P. lilacinus*, no entanto o produto químico Cruiser[®], promoveu uma maior germinação dos fungos testados, porém foi inferior a testemunha.

Os produtos químicos Avicta[®], Cruiser[®] e Maxim XL[®] foram classificados como compatíveis ao fungo *T. harzianum*. Com relação ao fungo *P. lilacinus*, os produtos Cruiser[®] e Maxim XL[®] foram classificados como compatíveis, porém o produto químico Avicta foi classificado como moderadamente tóxico (Tabela 11).

Tabela 11. Classificação da compatibilidade entre produtos fitossanitários químicos os e os fungos *Trichoderma harzianum* (IBFL006) e *Paecilomyces lilacinus* (PAE 10) de acordo com o valor do “IB”.

Tratamento	<i>Trichoderma harzianum</i>		<i>Paecilomyces lilacinus</i>	
	IB	Classificação	IB	Classificação
Cruiser[®]	76,68	Compatível	261,94	Compatível
Avicta[®]	96,00	Compatível	64,00	Moderadamente tóxico
Maxim XL[®]	71,60	Compatível	93,97	Compatível

IB= Índice Biológico Segundo Rossi-Zalaf et al. (2008).

Botelho (2010) avaliou a toxicidade de agroquímicos mais utilizados no manejo da cana-de-açúcar sobre os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em experimentos feitos em meio de cultura e no solo. A maior parte dos agroquímicos utilizados no manejo da cana-de-açúcar tem efeito tóxico sobre os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, podendo comprometer sua ação dos mesmos agentes de controle de pragas da cultura. No entanto, os inseticidas formulados à base de thiametoxan e fipronil se mostraram compatíveis ou moderadamente compatíveis com os fungos, sugerindo que possam ser empregados em uma possível estratégia de uso associado para o controle de pragas.

Quando os resultados foram submetidos ao cálculo do Índice Biológico (IB), apenas o produto Avicta[®] foi classificado como moderadamente tóxico para o fungo *P. lilacinus* (Tabela 3). Segundo Jaros-Su et al. (1999) os fungicidas são os produtos químicos que geram mais efeitos negativos contra a ação dos micro-organismos, mas o produto Avicta[®], mesmo não sendo um fungicida, alterou a produção de conídios e a germinação de *P. lilacinus*.

Pessoa; Loureiro (2013) avaliando o efeito dos fungicidas Arouch Prima[®], Nativo[®], Piori[®], PioriXtra[®], Fox[®] e Opera[®], nas doses mínima e máxima, recomendados para o controle da ferrugem da soja sobre o fungo *Nomureae rileyi*. Verificaram que todos os fungicidas e doses testados reduziram significativamente o

crescimento vegetativo, a viabilidade dos conídios e o número de unidades formadoras de colônia do fungo entomopatogênico, sendo todos considerados tóxicos e incompatíveis com *N. rileyi* isolado UFMS 02.

A compatibilidade de agrotóxicos é um processo em que organismos como fungos desenvolvem tolerância a esses compostos. Este processo pode ser devido a vias metabólicas alternativas ou reações enzimáticas insensíveis à inibição por esses agrotóxicos (Pelczar et al., 1980, Mourão et al., 2003).

Alterações dos aspectos morfológicos são considerados por Alves et al. (1998) como indícios de incompatibilidade entre produtos fitossanitários químicos e micro-organismos. Em todos os tratamentos nos quais se observou o crescimento vegetativo, este se apresentou de forma normal para ambos os fungos. Porém, cabe ressaltar que os resultados de testes *in vitro* não refletem necessariamente o que ocorre em campo, uma vez que o microrganismo é exposto ao contato, direto com o produto o que não necessariamente acontecerá em campo.

De acordo com Alves et al. (1998) os estudos *in vitro* têm a vantagem de expor ao máximo o micro-organismo à ação do produto químico, fato que não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição, protegendo-o, de maneira que constatada a inocuidade de um produto em laboratório, não há dúvidas sobre a sua seletividade em condições de campo.

4. CONCLUSÕES

Os produtos químicos Avicta[®], Cruiser[®] e Maxim XL[®], permitiram o crescimento vegetativo dos fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus*. O produto químico Cruiser[®], promoveu uma maior germinação dos fungos testados, e com relação ao número de conídios produzidos para o fungo *P. lilacinus*, apenas com o produto químico Cruiser[®] proporcionou a maior conidiogênese.

Os produtos Avicta[®], Cruiser[®] e Maxim XL[®] foram classificados como compatíveis ao fungo *T. harzianum*. Com relação ao fungo *P. lilacinus*, os produtos Cruiser[®] e Maxim XL[®] foram classificados como compatíveis, porém o produto químico Avicta[®] foi classificado como moderadamente tóxico, sendo que este produto químico pode ter algum efeito sobre o fungo *P. lilaci*

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S.B.; MOINO JR., A.; ALMEIDA, J.E.M. 1998. **Produtos fitossanitários e entomopatógenos**, p. 217-238. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; LAMAS, C. 2001. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30 p. 437-447.

BENZ, G. 1987. Environment. In. FUXA, R.; TANADA, Y. (Eds.). **Epizootiology of insect diseases**. New York: Wiley, p.177-214.

BOTELHO, A.A.A. 2010 **Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com agroquímicos utilizados no manejo integrado da cultura da cana-de-açúcar**. (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 58 p.

DUARTE, A.; MENENDEZ, J. M.; TRIGUEIRO, N. 1992. Estudio preliminar sobre La compatibilidad de *Metarhizium anisopliae* com algunos plaguicidas quimicos. **Rev. Baracoa**, La Habana, v. 22, p. 31-39.

GOETTEL, M.S.; HAJEK, E.A.; SIEGEL, J.P.; EVANS, H.C. 2001. Safety of fungal biocontrol agents. In: BUTT, T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Ed.). **Fungal as biocontrol agents: problems, progress and potential**. Wallingford: Cabi, Cap. 13, p. 347-376.s

JAROS-SU, J.; GRODEN, E.; ZHANG, J. 1999. Effects of selected fungicides and the timing of fungicide application on *Beauveria bassina*-induced mortality of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Biological Control**, v.15, n.3, p.259-269.

LOUREIRO, E.S.; MOINO JR., A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G.C. 2002. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.2, p.263-269.

MELO, I.S.1991. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. IN: BETTIOL, W. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p. 7-23.

MOURAO, S.A.; VILELA, E.F.; ZANUNCIO, J.C.; ZAMBOLIM, L.; TUELHER, E.S. 2003. Seletividade de Defensivos Agrícolas ao Fungo Entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32(1), p.103-106.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO JR. A. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p.263-268.

PESSOA, L.G.A.; LOUREIRO, E.S. 2013. Compatibilidade de fungicidas utilizados no controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) (Sydow; P. Sydow) (Basidiomicotina: Urediniomycetes) com o fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson (Deuteromycotina: Hyphomycetes). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13. 2013, Bonito. Anais. SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL/EMBRAPA.

ROSSI-ZALAF, L.S.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B. SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M.R. 2008. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. p. 279-302 In: Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios. Piracicaba: FEALQ, 414 p.

SANTIN, R.C.M. 2008. **Potencial do uso de *Trichoderma* sp. e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris***. (Tese de doutorado) UFRS-Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, 92 p.

SILVA, R. Z; NEVES, P. M. O. J.; SANTORO, P. H. 2005. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 305-312, jul./set.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, J. J. da. (Org.). 2002. **Fungos entomopatogênicos: catálogos de isolados**. Londrina: Embrapa Soja, 32 p. Embrapa Soja. Documentos, 188).