

CRESCIMENTO MICELIAL E PARASITISMO DE *Paecilomyces lilacinus* SOBRE OVOS DE *Meloidogyne paranaensis* EM DIFERENTES TEMPERATURAS “IN VITRO”

“*In vitro*” mycelial growth and parasitism of *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne paranaensis* eggs at different temperatures

Marina Capparelli Cadioli¹, Débora Cristina Santiago², Adriano Thibes Hoshino³, Martin Homechin⁴

RESUMO

Paecilomyces lilacinus é um fungo de solo, parasita facultativo de ovos de nematóides, que pode crescer rapidamente “in vitro”. Este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento micelial de *P. lilacinus* em diferentes temperaturas e selecionar os melhores isolados quanto à capacidade de parasitar ovos de *Meloidogyne paranaensis*. Foram avaliados isolados de *P. lilacinus*, obtidos de solos coletados na região de Londrina, PR. Para o isolamento empregou-se a técnica de diluição seriada dos solos e plaqueamento em meio de cultura semi-seletivo. A determinação do crescimento micelial e do parasitismo “in vitro” dos isolados sobre *M. paranaensis* foi realizada em placas de Petri contendo meio BDA. Os isolados foram incubados em B.O.D. a temperaturas de 20°C, 22,5°C, 25°C, 27,5°C e 30°C. A avaliação do crescimento foi interrompida quando em um dos tratamentos a colônia do fungo atingiu a borda da placa de Petri e a determinação do parasitismo foi realizada depois de oito dias de incubação, calculando-se a porcentagem de ovos parasitados. O crescimento micelial dos isolados de *P. lilacinus* teve grande dependência da temperatura de incubação a que foram submetidos, sendo mais rápido à temperatura de 22,5°C. Os isolados de *P. lilacinus* revelaram habilidade para infectar os ovos de *M. paranaensis* em meio BDA, principalmente na temperatura de 25°C.

Termos para indexação: Controle Biológico, nematóide de galhas, parasita de ovos, desenvolvimento fúngico.

ABSTRACT

Paecilomyces lilacinus is a soil fungus, facultative parasite of nematode eggs, which develops quickly “in vitro”. The mycelial growth of *P. lilacinus* isolates was evaluated at different temperatures and the best isolates, regarding the capacity to parasitize *Meloidogyne paranaensis* eggs, were chosen. *P. lilacinus* soil isolates from Londrina, Parana state, were evaluated. Isolation was done using serial dilution of the soils and plating it in semi-selective agar medium. The determination of mycelial growth and “in vitro” parasitism of these isolates was done using Petri plates containing potato-dextrose-agar (PDA), placed in chamber at 20°C, 22.5°C, 25°C, 27.5°C or 30°C. The evaluation started when in one of the treatments of the fungus colonies reached the edge of the Petri plate. Parasitism was determined after 8 days of incubation, calculating the percentage of parasitized eggs. The mycelial growth of *P. lilacinus* isolates was greatly dependent on the temperature. The fastest growth occurred at 22.5°C. The isolates of *P. lilacinus* were able to infect *M. paranaensis* eggs in PDA medium, mostly at 25°C.

Index terms: Biological Control, root-knot nematode, egg parasite, fungal development.

(Recebido em 9 de março de 2006 e aprovado em 17 de outubro de 2006)

INTRODUÇÃO

Nematóides formadores de galhas (*Meloidogyne* GÖELDI) estão amplamente disseminados no Brasil e estão entre os principais problemas fitossanitários em culturas de importância econômica (CARNEIRO et al., 1996; MOURA, 1996). Dentre esses, é de grande importância a espécie *M. paranaensis* (CARNEIRO et al., 1996), tanto pela ampla distribuição geográfica como pela severidade dos danos causados nas diferentes culturas (CARNEIRO

et al., 1996). Levantamentos realizados no Paraná e em São Paulo têm mostrado um aumento na distribuição dessa espécie em áreas cafezeiras (KRZYZANOWSKI et al., 2001; LORDELLO et al., 2001).

Os métodos mais usados para controlar fitonematóides têm sido o uso de nematicidas, variedades resistentes e rotação de culturas. No entanto, existe uma pressão da sociedade no sentido da substituição dos atuais nematicidas por princípios ativos ou por táticas de controle

¹Engenheira Agrônoma, Pós-Graduada, Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina/UEL – Centro de Ciências Agrárias – Departamento de Agronomia – Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380 – Campus Universitário – Cx. P. 6001 – 86051-990 – Londrina, PR – marinacadioli@hotmail.com

²Engenheira Agrônoma, Professora Doutora – Universidade Estadual de Londrina/UEL – Centro de Ciências Agrárias – Departamento de Agronomia – Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380 – Campus Universitário – Cx. Postal 6001 – 86051-990 – Londrina, PR – santiago@uel.br

³Graduando do Curso de Agronomia – Universidade Estadual de Londrina/UEL – Centro de Ciências Agrárias – Departamento de Agronomia – Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380 – Campus Universitário – Cx. P. 6001 – 86051-990 – Londrina, PR – hoshinoagro@gmail.com

⁴Engenheiro Agrônomo, Professor Doutor – Universidade Estadual de Londrina/UEL – Centro de Ciências Agrárias – Departamento de Agronomia – Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380 – Campus Universitário – Cx. P. 6001 – 86051-990 – Londrina, PR – homechin@uel.br

ecologicamente mais recomendáveis. Esse fato tem levado à busca de métodos alternativos para o controle de fitonematóides, principalmente para os gêneros de maior importância, a exemplo de *Meloidogyne* (CARNEIRO, 1992).

A supressão dos nematóides devido à atuação de antagonistas, observada em alguns solos, e a não recomendação de alguns nematicidas aumentaram o interesse pelo controle biológico com o emprego de fungos nematófagos (FERRAZ & SANTOS, 1995). Muitos fungos têm demonstrado capacidade de parasitar fitonematóides (CARNEIRO, 1992; MANKAU, 1980).

Paecilomyces lilacinus (THOM) SAMSON é um fungo de solo que tem se mostrado efetivo no controle de espécies de *Meloidogyne* (CAMPOS & CAMPOS, 1996, 1997; KERRY, 1990). Foi reportado pela primeira vez como parasita em 1976 por Jatala, quando observou a presença deste infectando ovos de *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood (1949) e *Globodera pallida* (Stone, 1973) Behrens (1975) sobre raízes de batatas (*Solanum tuberosum* L.) no Peru (JATALA, 1986). No Brasil, o primeiro relato de *P. lilacinus* como parasita de ovos de *Meloidogyne* sp. foi feito por Freire & Bridge (1985), em raízes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) cv. Singapura.

P. lilacinus é um anamorfo de ascomiceto da ordem Eurotiales, encontrado em diferentes regiões do mundo e tem sido observado com maior frequência em regiões quentes. Sua presença tem sido detectada em diferentes tipos de hospedeiros e solos, cultivados ou não (FARIA & TIGANO, 1996; SOSA-GOMEZ, 2002), sendo mais comuns em profundidades variando de 0-40 cm (CARNEIRO, 1986). É um parasita facultativo de ovos de nematóides que pode crescer rapidamente “*in vitro*” e a sua sobrevivência no solo não depende da presença dos nematóides (CARNEIRO, 1992).

A seleção de isolados, quanto ao parasitismo, é de extrema importância na busca de microrganismos eficientes como agentes de controle biológico e adaptados a diferentes regiões. Novaretti et al. (1986), na cultura de cana-de-açúcar e Hewlett et al. (1988) em fumo, contestaram a eficiência desse fungo em condições de campo, provavelmente devido à inadequação dos métodos de aplicação, de produção de conídios do fungo e de avaliação dos ensaios (KERRY, 1990) e não adaptação do isolado a diferentes condições e tipos de solo (CARNEIRO, 1992).

Dentro de uma espécie fúngica existem variações quanto à capacidade de colonizar os ovos de nematóides. Rodríguez-Kábana et al. (1984) e Stirling & West (1991) observaram que isolados de *Verticillium chlamydosporium* GODDARD e de *P. lilacinus* apresentavam variabilidade

quanto ao grau de parasitismo, sendo esta mais acentuada para *P. lilacinus*.

Para que se possa saber se os isolados de *P. lilacinus* podem, ou não, ser utilizados no controle de nematóides, é necessário definir, primeiro, quais as melhores condições de multiplicação desse fungo, principalmente no que se refere à temperatura, uma vez que esse microrganismo ficará exposto à variação térmica que ocorre no solo durante o ano (FIORETTO & VILLACORTA, 1981). Embora resultados encorajadores sejam observados em condições brasileiras (COSTA & CAMPOS, 1997; FREITAS et al., 1999; MIZOBUTSI et al., 2000), informações básicas sobre o comportamento de *P. lilacinus* como parasita de nematóides de galhas, em diferentes condições climáticas e ambientais do solo, são necessárias para que seu emprego na agricultura seja recomendado, especialmente no controle de *M. paranaensis*, nematóide carente de informações com relação ao seu manejo.

Portanto, realizou-se este trabalho com o objetivo de avaliar o crescimento micelial de *P. lilacinus* em diferentes temperaturas (20°C, 22,5°C, 25°C, 27,5°C e 30°C) e selecionar os melhores isolados quanto a capacidade de parasitar ovos de *M. paranaensis* “*in vitro*”.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 31 isolados de *P. lilacinus*, obtidos de amostras de solos coletadas em áreas cultivadas com café, pastagem, eucalipto e milho, na região de Londrina - PR, no período de março a maio de 2005.

Para o isolamento de *P. lilacinus* foi empregada a técnica de diluição seriada dos solos e plaqueamento em meio de cultura semi-seletivo de Alves et al. (1998), com pequenas modificações, composto por 20 g de farinha de aveia, 20 g de ágar, 300 mg de Venturol® (dodine 650 g.kg⁻¹), 50 mg de solução de violeta genciana, 5 mg de Tetraciclina (cloridrato de tetraciclina 300 mg) em 1000 mL de água destilada. Após a obtenção e identificação dos isolados de *P. lilacinus*, estes foram repicados para meio de batata-dextrose-ágar (BDA) em tubos de ensaio, catalogados e armazenados em geladeira.

A determinação do crescimento micelial e do parasitismo “*in vitro*” dos isolados sobre *M. paranaensis* foi realizada em placas de Petri contendo 15 mL de meio ágar-água (1,5%). Discos de 5 mm de diâmetro dos isolados fúngicos, obtidos de cultivo puro em BDA, foram transferidos para o centro de cada placa. Na testemunha foi transferido apenas um disco de 5 mm de meio de BDA sem o fungo. Ao redor dos discos foram colocadas três

massas de ovos de *M. paranaensis*, obtidas a partir de uma população pura multiplicada em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) cv. Santa Cruz durante 45 dias sob condições de casa-de-vegetação.

As placas foram incubadas em câmaras do tipo B.O.D. às temperaturas de 20°C, 22,5°C, 25°C, 27,5°C e 30°C, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro. O crescimento micelial foi acompanhado diariamente, medindo-se o diâmetro da colônia do fungo em dois sentidos perpendiculares entre si. A avaliação foi interrompida quando em um dos tratamentos a colônia do fungo atingiu a borda da placa de Petri.

A determinação do parasitismo foi realizada depois de oito dias de incubação. Para tanto, discos equidistantes de 9 mm de diâmetro foram retirados ao redor das massas de ovos de cada placa e foram colocados em seqüência sobre uma lâmina para microscopia. Sobre os discos foi acrescentada uma gota de lactofenol, contendo azul de algodão, e em microscópio ótico, sob aumento de 100 vezes, foi avaliada a porcentagem de ovos parasitados em relação ao número total.

Para análise estatística foi utilizado o modelo fatorial 31 x 5 (isolados x temperaturas) com 10 repetições, cinco para a obtenção do crescimento micelial e cinco para o teste de parasitismo, e as médias dos tratamentos foram comparadas por meio dos testes de Scott-knot (para isolado) e de Tukey (para temperatura) ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variância para as temperaturas testadas mostrou significância, o que indica que o crescimento micelial dos isolados de *P. lilacinus* teve grande dependência da temperatura de incubação a que foram submetidos (Tabela 1). Na temperatura de 20°C foi observado que os isolados Pae 03, 05, 10, 12 e 20 apresentaram desenvolvimento micelial superior aos demais no período considerado. Na temperatura de 22,5°C, os melhores crescimentos foram observados para os isolados Pae 03, 06, 07, 09, 10, 11 e 13. Na temperatura de 25°C, os isolados Pae 08 e 22 se destacaram com crescimento superior aos demais. Já para a temperatura de 27,5°C, o isolado Pae 21 teve melhor crescimento micelial e os isolados que se destacaram na temperatura de 30°C foram Pae 22, 24 e 30.

Com relação ao desenvolvimento micelial observou-se um aspecto interessante na temperatura de 22,5°C, em que os isolados Pae 03, 06, 07, 09, 10, 11 e 13 apresentaram um crescimento muito mais rápido em comparação às outras temperaturas avaliadas, chegando a atingirem a borda das

placas ao quinto dia de incubação. Estes resultados diferem dos obtidos por Fioretto & Villacorta (1981), os quais observaram maior crescimento de *P. lilacinus* nas temperaturas de 24 e 25°C. No entanto, estes autores estudaram o comportamento apenas de um isolado proveniente do Peru.

Para os isolados Pae 02, 23 e 31 a temperatura não influenciou de maneira significativa o crescimento micelial. As temperaturas de 20 e 22,5°C foram as melhores para o desenvolvimento do isolado Pae 05. Os isolados Pae 04, 09 e 16 tiveram crescimento semelhante tanto a 22,5 quanto a 25°C. Já os isolados Pae 18, 27 e 29 apresentaram crescimento semelhante nas temperaturas de 22,5°C e 27,5°C. As temperaturas de 25 e 27,5°C foram as melhores para o isolado Pae 25 e as temperaturas de 25 e 30°C para os isolados Pae 22 e 24. Os isolados Pae 01, 15, 19, 20 e 30 apresentaram resultados variáveis em função das temperaturas. Já o isolado Pae 21 teve maior crescimento na temperatura de 27,5°C e os isolados Pae 12 e 26 apresentaram maior desenvolvimento micelial nas temperaturas de 25°C e 27,5°C, respectivamente. E os demais apresentaram melhor crescimento micelial na temperatura de 22,5°C. Estes resultados corroboram com o que foi citado por Felli et al. (1985) e Jatala (1986). E, por isso, a eficiência e a adaptabilidade de *P. lilacinus* no controle de nematóides em diferentes condições climáticas e ambientais do solo, ainda necessita ser melhor explorada. Portanto, o presente estudo pode ser importante na recomendação dos isolados em função das condições climáticas de cada região.

Quanto à capacidade de parasitismo, os isolados de *P. lilacinus* revelaram habilidade para infectar os ovos de *M. paranaensis* em meio BDA (Tabela 2). Na temperatura de 20°C, os isolados mais agressivos aos ovos foram Pae 03, 05, 09, 10, 12, 13, 17, 20, 26, 28, 29 e 30, com percentuais de parasitismo que variaram de 55,98 a 95,23%. Na temperatura de 22,5°C os isolados que apresentaram maior porcentagem de parasitismo foram Pae 03, 04, 05, 06, 07, 10, 12, 13, 15, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30 e 31, com percentuais variando de 69,98 a 98,66%. Na temperatura de 25°C, os isolados Pae 13, 17, 22 e 26 diferiram estatisticamente dos demais, apresentando os menores percentuais de ovos parasitados. Estes percentuais variaram entre 80,39 e 87,15%, no entanto foram bem superiores àqueles menores observados nas temperaturas de 20 e 22,5°C. Os isolados mais agressivos na temperatura de 27,5°C foram Pae 05, 09, 11, 14, 20, 21, 22 e 26 com percentuais variando de 81,00 a 95,86%. Na temperatura de 30°C, com exceção dos isolados Pae 04, 09, 13, 14, 17 e 29, todos os demais apresentaram percentuais de parasitismo superiores a 79,20%.

TABELA 1 – Crescimento micelial de isolados de *Paecilomyces lilacinus* “*in vitro*” em diferentes temperaturas de incubação.

Isolado	Temperatura				
	20 °C	22,5 °C	25 °C	27,5 °C	30 °C
Pae01	3,03 C ¹ ab ²	2,33 D b	1,53E b	2,88D ab	4,28D a
Pae02	2,00 D a	3,25 D a	1,94E a	3,40C a	3,00E a
Pae03	4,95 A b	8,25 A a	3,20D c	3,05C c	5,10C b
Pae04	3,83 B bc	5,45 B ab	5,95B a	2,75D cd	1,70F d
Pae05	4,80 A a	6,20 B a	2,84D b	1,66D bc	1,13F c
Pae06	4,18 B b	7,40 A a	3,52D b	3,05C bc	1,56F c
Pae07	3,90 B b	7,75 A a	4,49C b	2,20D c	1,80F c
Pae08	1,84 D c	6,25 B a	2,81D bc	3,30C bc	3,74D b
Pae09	4,46 B b	8,35 A a	7,23A a	3,20C b	1,06F c
Pae10	5,00 A b	7,80 A a	3,28D c	2,40D c	5,22C b
Pae11	3,50 C b	7,10 A a	2,67D b	2,26D b	3,24E b
Pae12	5,57 A a	5,10 C a	5,57B a	1,90D b	1,81F b
Pae13	4,00 B b	8,15 A a	2,45E bc	2,40D bc	1,79F c
Pae14	3,61 C b	6,75 B a	4,28C b	4,12C b	1,83F c
Pae15	3,57 C b	6,65 B a	5,27B b	2,80D b	5,70B a
Pae16	3,30 C bc	4,80 C ab	5,89B a	2,10D c	1,75F c
Pae17	3,64 C b	6,30 B a	3,62D bc	1,90D d	1,95F cd
Pae18	4,08 B b	6,70 B a	2,71D bc	6,05B a	2,33E c
Pae19	4,66 B a	2,46 D b	5,97B a	2,55D b	5,85B a
Pae20	6,00 A a	6,05 B a	3,69D b	5,50B a	5,55B a
Pae21	3,85 B b	5,40 B b	4,86C b	7,35A a	4,63C b
Pae22	4,55 B c	4,90 C c	7,65A a	5,65B bc	6,68A ab
Pae23	4,55 B a	5,20 C a	4,35C a	5,70B a	4,70C a
Pae24	4,32 B bc	4,85 C bc	5,82B ab	3,80C c	7,45A a
Pae25	2,10 D b	1,02 D b	5,46B a	5,00B a	2,60E b
Pae26	3,15 C ab	4,15 C a	3,15D ab	3,80C a	2,03F b
Pae27	3,32 C bc	4,65 C ab	2,82D c	5,55B a	2,23E c
Pae28	4,00 B b	5,85 B a	2,91D bc	4,05C b	2,02F c
Pae29	2,10 D abc	3,30 D ab	1,72E bc	3,60C a	1,54F c
Pae30	3,25 C b	6,70 B a	3,31D b	4,80B b	6,59A a
Pae31	2,80 C a	2,60 D a	2,90D a	2,60D a	4,26D a
CV (%)	18,6	21,06	14,45	40,47	19,15

¹Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-knot ao nível de 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em se considerando o parasitismo dos isolados, nas temperaturas de 25 e 30°C, foram encontrados os maiores percentuais de parasitismo dos ovos, a exceção dos isolados Pae 04, 09, 13, 14, 17, 29 e 30, os quais na temperatura de 30°C apresentaram percentuais semelhantes aos observados em 20°C. Para os isolados Pae 07, 18 e 28 em 25°C, e Pae 24 na temperatura de 30°C, 100% dos ovos encontravam-se parasitados.

Na temperatura de 22,5°C houve grande variação na porcentagem de parasitismo, apesar do rápido crescimento micelial observado nesta temperatura, sendo similar ao resultado

obtido por Freitas et al. (1995), comparando 19 isolados de *P. lilacinus* de diferentes procedências quanto ao parasitismo de ovos de *M. javanica*, os quais obtiveram 100% de parasitismo pelos isolados procedentes da Itália e do Peru e, 70% pelo isolado originário da França. Já para os isolados brasileiros houve variação de 2 a 69% de ovos parasitados. Da mesma forma, Santos et al. (1992) observou resultado diferenciado no parasitismo de *M. incognita* por diferentes isolados de *P. lilacinus*. Esta variabilidade pode ser devida à adaptação seletiva aos vários fatores edáficos em sua origem geográfica, tal como tipo de solo ou temperatura ambiente.

TABELA 2 – Parasitismo de ovos de *Meloidogyne paranaensis* “in vitro” por isolados de *Paecilomyces lilacinus* em diferentes temperaturas de incubação.

Isolado	Temperatura				
	20 °C	22,5 °C	25 °C	27,5 °C	30 °C
Pae01	47,82 B c ²	62,42 B bc	98,90 A a	37,00 C c	89,45 A ab
Pae02	21,88 B bc	42,00 C b	92,28 A a	8,33 D c	82,56 A a
Pae03	64,07 A b	73,63 A ab	96,18 A a	15,33 D c	95,35 A a
Pae04	32,14 B c	69,98 A b	98,89 A a	45,32 C bc	51,94 C bc
Pae05	62,57 A b	93,55 A a	93,62 A a	92,00 A a	85,49 A ab
Pae06	34,50 B b	98,00 A a	97,72 A a	36,66 C b	88,29 A a
Pae07	44,51 B b	97,06 A a	100,00 A a	73,10 B a	92,26 A a
Pae08	23,21 B b	33,28 C b	95,62 A a	11,66 D b	89,13 A a
Pae09	79,40 A ab	40,66 C c	99,50 A a	90,99 A a	59,98 B bc
Pae10	77,36 A ab	96,10 A a	98,83 A a	60,38 B b	95,63 A a
Pae11	33,79 B c	65,33 B b	97,73 A a	88,33 A ab	87,40 A ab
Pae12	94,50 A a	92,18 A a	98,95 A a	49,66 B b	91,74 A a
Pae13	70,19 A abc	81,66 A ab	87,15 B a	58,64 B bc	45,86 C c
Pae14	47,84 B b	19,99 C c	94,58 A a	81,00 A a	47,74 C b
Pae15	23,20 B c	86,11 A ab	91,82 A a	63,72 B b	89,90 A ab
Pae16	21,88 B c	59,42 B b	99,57 A a	7,66 D c	80,24 A ab
Pae17	56,25 A ab	53,78 B ab	80,39 B a	41,00 C b	70,42 B a
Pae18	37,32 B b	94,78 A a	100,00 A a	50,72 B b	79,78 A a
Pae19	33,72 B b	34,99 C b	98,86 A b	12,83 D a	97,47 A a
Pae20	95,23 A a	86,66 A a	98,42 A a	95,86 A a	95,66 A a
Pae21	44,51 B b	80,32 A a	98,19 A a	88,39 A a	98,89 A a
Pae22	47,46 B b	96,66 A a	80,54 B a	86,33 A a	96,60 A a
Pae23	48,58 B b	95,00 A a	91,74 A a	5,66 D c	95,92 A a
Pae24	51,06 B b	95,76 A a	94,30 A a	14,66 D c	100,00 A a
Pae25	20,91 B c	78,32 A ab	97,16 A a	56,33 B b	81,72 A ab
Pae26	55,98 A b	91,66 A a	82,15 B ab	89,06 A a	93,34 A a
Pae27	34,69 B b	93,06 A a	99,49 A a	52,66 B b	87,22 A a
Pae28	56,78 A b	85,00 A a	100,00 A a	16,33 D c	89,05 A a
Pae29	58,59 A b	65,00 B b	99,03 A a	54,78 B b	43,68 C b
Pae30	65,51 A b	98,66 A a	99,95 A a	70,32 B b	79,20 A ab
Pae31	31,68 B b	97,00 A a	99,87 A a	10,33 D b	81,66 A a
CV(%)	46,16	21,15	5,56	34,44	15,47

¹Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-knot ao nível de 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Variações quanto à capacidade de colonizar os ovos de nematóides são comumente observadas dentro de uma mesma espécie fúngica. Rodríguez--Kábana et al. (1984) e Stirling & West (1991) observaram que isolados de *V. chlamydosporium* e de *P. lilacinus* apresentavam variabilidade na patogenicidade, sendo esta mais acentuada para *P. lilacinus*.

Mizobutsi et al. (2000) verificaram que o fungo *P. lilacinus* parasitou 77% dos ovos de *M. javanica* (Treub,

1885) Chitwood (1949), enquanto que a maioria dos isolados de outros fungos testados mostrou-se pouco eficaz no parasitismo. O fato das fêmeas adultas de *Meloidogyne* concentrarem seus ovos em uma matriz gelatinosa pode facilitar o desenvolvimento do *P. lilacinus* e o parasitismo dos ovos. Segundo Jatala (1986), fungos parasitas de ovos são mais eficientes na redução da população de nematóides em comparação com aqueles que atuam como endoparasitas e predadores. Também são considerados

os agentes mais promissores para o biocontrole, uma vez que impedem ou reduzem a formação de ovos pelos nematóides (KERRY et al., 1982).

Para que se possa saber se os isolados de *P. lilacinus* podem, ou não, ser utilizados no controle de nematóides, é necessário definir, primeiro, quais as melhores condições de multiplicação desse fungo, principalmente no que se refere à temperatura, uma vez que esse microrganismo ficará exposto à variação térmica que ocorre no solo durante o ano (FIORETTO & VILLACORTA, 1981).

CONCLUSÕES

O crescimento micelial dos isolados de *P. lilacinus* teve grande dependência da temperatura de incubação a que foram submetidos, sendo mais rápido a 22,5°C. Os isolados de *P. lilacinus* revelaram habilidade para infectar os ovos de *M. paranaensis* em meio BDA, principalmente na temperatura de 25°C.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Rui G. Carneiro, responsável pelo Laboratório de Nematologia do IAPAR, Londrina-PR, pelo fornecimento de inóculo de *M. paranaensis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M. de; MOINO JÚNIOR, A.; ALVES, L. F. A. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 637-711, 1163 p.

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P. Efeito da época e forma de aplicação dos fungos *Arthrobotrys conoindes*, *Arthrobotrys musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamyosporium* no controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 22, n. 2, p. 168-171, 1996.

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P. Efeito da época e forma de aplicação dos fungos *Arthrobotrys conoindes*, *Arthrobotrys musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamyosporium* no controle de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 361-365, 1997.

CARNEIRO, R. M. D. G. **Etude des possibilites d'utilisation du champignon nematophage *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson, 1974, Comme Agent de Lutte**

Biologique contre *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889), Chitwood, 1949. 1986. 119 f. Tese (Doutorado) - Universite des Sciences et Techniques du Languedoc, Paris, 1986.

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

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O.; SANTOS, M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**, College Park, v. 28, n. 2, p. 177-189, 1996.

COSTA, S. B.; CAMPOS, V. P. Production of *Heterodera glycines* females in hydroponic solution and pathogenicity tests with fungi isolated from cysts to *H. glycines* and *Meloidogyne* spp. females. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 23, n. 3/4, p. 239-243, 1997.

FARIA, M. R.; TIGANO, M. S. **Coleção de fungos entomopatogênicos do Cenargen**. Brasília, DF: Embrapa, 1996. 76 p.

FELLI, L. S.; SACCHI, E. C.; MONTEIRO, A. R. Efeito de *Paecilomyces lilacinus*, carbamatos e matéria orgânica no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 9, p. 34-35, 1985.

FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. In: _____. **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Embrapa, 1995. p. 283-314.

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

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

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

- FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. J. Effectiveness of different isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**, Louisiana, v. 25, n. 2, p. 109-115, 1995.
- HEWLETT, T. E.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J.; KANNWISCHER-MITCHELL, M. E. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobacco. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 20, n. 4, p. 578-584, 1988.
- JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, New York, v. 24, p. 453-489, 1986.
- KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial controle of plant parasitic nematode. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 22, n. 45, p. 621-631, 1990. Supplement.
- KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal-cyst nematode, *Heterodera avenae* Woll. under continuous cereals, 1975-1978: II. fungal parasitism of nematode eggs and females. **Annals Applied Biology**, [S.l.], v. 100, n. 3, p. 489-499, 1982.
- KRZYŻANOWSKI, A. A.; FIGUEIREDO, R.; SANTIAGO, D. C.; FAVORETO, L. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no estado do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Anais...** Vitória: UFES, 2001. p. 81.
- LORDELLO, A. I. L.; LORDDELLO, R. R. A.; FAZUOLI, L. C. Levantamento de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiros no estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Anais...** Vitória: UFES, 2001. p. 81-82.
- MANKAU, R. Biological control of nematode pests by natural enemies. **Annual Review Phytopathology**, New York, v. 18, p. 425-440, 1980.
- MIZOBUTSI, E. H.; FERRAZ, S.; RIBEIRO, R. C. F. Avaliação do parasitismo de diversos isolados fúngicos em *Heterodera glycines* e *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 24, n. 2, p. 167-172, 2000.
- MOURA, R. M. O gênero *Meloidogyne* e a Meloidoginose: parte I. In: LUZ, W. C. da; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Eds.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Embrapa, 1996. v. 4, p. 281-315.
- NOVARETTI, W. R. T.; DINARDO-MIRANDA, L. L.; TOTINO, L. C.; STRABELLI, J. Efeito da aplicação conjunta do fungo *Paecilomyces lilacinus* e do nematocida Furadan 5 G no controle de nematóides em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 10, p. 133-144, 1986.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G.; GINTIS, B. O. Effect of chitin amendments to soil on *Heterodera glycines*, microbial populations and colonization of cysts by fungi. **Nematropica**, Louisiana, v. 14, p. 10-25, 1984.
- SANTOS, M. A. dos; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. J. Evaluation of 20 species of fungi from Brazil for biocontrol of *Meloidogyne incognita* race 3. **Nematropica**, Louisiana, v. 22, n. 2, p. 183-192, 1992.
- SOSA-GOMEZ, D. R. **Fungos entomopatogênicos**: catálogo de isolados. Londrina: Embrapa-Soja, 2002. v. 1, p. 1-32. (Série Documentos).
- STIRLING, G. R.; WEST, L. M. Fungal parasites of root-knot nematode eggs from tropical and sub-tropical regions of Australia. **Australasian Plant Pathology**, Sidney, v. 20, n. 4, p. 149-154, 1991.