

## MANEJO DE *MELOIDOGYNE PARANAENSIS* EM MUDAS DE CAFEIEIRO COM O FUNGO *PAECILOMYCES LILACINUS*

Fernando César Baida<sup>2</sup>; Débora Cristina Santiago<sup>3</sup>; Marina Capparelli Cadioli<sup>4</sup>; Camila Torres Stroze<sup>5</sup>; Ana Paula do Amaral Mônaco Foganhóli<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – CBP&D/Café

<sup>2</sup>Mestrando em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR. [fbaida@hotmail.com](mailto:fbaida@hotmail.com)

<sup>3</sup>Professor, D.Sc., Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR. [santiago@uel.br](mailto:santiago@uel.br)

<sup>4</sup>Doutoranda em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR. [marinacadioli@hotmail.com](mailto:marinacadioli@hotmail.com); [anapaulamonaco@yahoo.com.br](mailto:anapaulamonaco@yahoo.com.br)

<sup>5</sup>Graduanda em Agronomia, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina. [mila\\_agro13@hotmail.com](mailto:mila_agro13@hotmail.com)

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar o isolado de *Paecilomyces lilacinus* mais eficiente e a sua melhor formulação (pó ou emulsão) para reduzir a população de *Meloidogyne paranaensis* em mudas de cafeeiro altamente infestadas. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação na Universidade Estadual de Londrina, no Centro de Ciências Agrárias. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados contendo nove tratamentos (Isolado Pae18 pó e emulsão; Isolado Pae 22 pó e emulsão; Nemat pó e emulsão; Nemaplus®; estemunha inoculada com *M. paranaensis* e testemunha sem a inoculação do nematóide) e cada tratamento com 10 replicas. Passado cinco dias da inoculação do nematóide foram aplicados 2 gramas ou ml de cada produto em questão por planta. E após 60 dias foram avaliados a altura das plantas; diâmetro de caule; pesos da parte aérea e sistema radicular e massas de ovos por sistema radicular, por meio da imersão em solução de floxina B 0,015%, durante 15 minutos, para coloração das mesmas; número de fêmeas que penetraram nas raízes, segundo a metodologia de Bird et al., 1983; extração dos ovos (Boneti & Ferraz, 1981). Os dados obtidos aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos foram submetidos às análises de variância e ao teste de Tukey à 5% de probabilidade de erro. Os isolados de *P. lilacinus* não afetaram a altura e diâmetro do caule do cafeeiro. Os isolados de *P. lilacinus* não afetaram o peso fresco da parte aérea e de raízes do cafeeiro. A população de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. paranaensis* no solo não foi reduzida pelos isolados testados na formulação Pó e Emulsão. Todos os isolados mostraram capacidade na redução do número de ovos nas raízes em comparação com a testemunha, especialmente o tratamento onde se utilizou todos os isolados em mistura na formulação em Emulsão, ao isolado Pae 18 na formulação Pó e ao isolado Pae 22 na formulação em Emulsão.

**Palavras-chave:** *P. lilacinus*, formulação, café, *M. paranaensis*.

## MANAGEMENT OF *MELOIDOGYNE PARANAENSIS* WITH FUNGI IN *PAECILOMYCES LILACINUS* SEEDLINGS COFFEE.

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the isolation of *Paecilomyces lilacinus* more efficient and the best formulation (powder or emulsion) to reduce the population of *Meloidogyne paranaensis* in highly infested seedlings of coffee. The experiment was conducted green house in Londrina State University, Center for Agricultural Sciences. The experimental design was randomized blocks with nine treatments (Isolate Pae18 powder and emulsion, 22 Pae Isolate powder and emulsion, powder and emulsion Nemat; Nemaplus ®; witness inoculated with *M. paranaensis* and control without the inoculation of the nematode) and each treatment with 10 replicas. After five days of inoculation of the nematode were applied 2 g or ml of product in question by each plant. And after 60 days were the height of plants, stem diameter, weight of shoot and root masses and of eggs per root system, through immersion in a solution of floxina B 0015%, 15 minutes for staining the same , number of females that entered the roots, according to the method of Bird et al., 1983; extraction of eggs (Boneti & Ferraz, 1981). Data obtained at 60 days after application of the treatments were submitted to variance analysis and Tukey test to 5% error probability. Isolates of *P. lilacinus* did not affect the height and diameter of the stem of the coffee. Isolates of *P. lilacinus* did not affect the fresh weight of shoots and roots of coffee. The population of the second stage juveniles (J2) of *M. paranaensis* the soil was not reduced by the isolates tested in powder and emulsion formulation. All isolates showed ability to reduce the number of eggs in the roots compared to control, especially where the treatment was used in all isolates in the formulation mixture in emulsion, 18 Pae to isolate the powder formulation and isolated in the formulation Pae 22 emulsion.

**Key words:** *P. lilacinus*, formulation, coffee, *M. paranaensis*.

## INTRODUÇÃO

A cafeicultura é considerada uma atividade importante na região Norte do Paraná, não apenas do ponto de vista econômico, mas também pelo lado social. E nessa cultura, entre os parasitos de plantas, os nematóides de galhas do gênero *Meloidogyne* são em parte responsáveis por grande perda na produção agrícola, pois como freqüentemente não exibem sintomas claros, o efeito econômico decorrente de sua presença tende a ser subestimado através de produtores, chegando a ter perdas na agricultura mundial estimadas em aproximadamente US\$ 80 bilhões/ano (Agrios, 1997).

O controle de nematóides é vital para a exploração agrícola comercial, o que pode ser feito com o uso de nematicidas sintéticos, resultantes da indústria petroquímica (Campos et al., 1990; Campos, 1997), porém, os nematicidas sintéticos podem contaminar águas subterrâneas, intoxicar aplicadores ou deixar resíduos em alimentos, o que fez surgir pesquisas sobre o uso de produtos biológicos, que podem melhorar a produção, oferecer ao consumidor produto com melhor qualidade e resgatar o equilíbrio populacional de nematóides nos moldes existentes do ecossistema natural.

Uma possível alternativa consiste no emprego de fungos, uma vez que vários desses microrganismos produzem metabólitos tóxicos aos nematóides (Mankau, 1979). Tais substâncias podem afetar a motilidade (Costa, 2000), capacidade de penetração na planta, atração do juvenil pelo hospedeiro, eclosão ou casuar a morte desses fitoparasitas (Kerry et al., 1984), podendo atuar como moléculas nematostáticas ou nematicidas (Saifullah, 1996; Hallman e Sikora, 1996).

*Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson é um fungo de solo que tem se mostrado efetivo no biocontrole de espécies do gênero *Meloidogyne* (Kerry, 1990). É um hifomiceto da ordem Moniliales distribuído por todo o mundo, com maior freqüência em regiões quentes (Carneiro, 1986). Caracteriza-se por penetrar nos ovos dos nematóides, destruindo o embrião, podendo exercer forte pressão na capacidade reprodutiva das fêmeas que são colonizadas e posteriormente mortas (Dunn et al., 1982). No Brasil, existem registros de *P. lilacinus* em diferentes tipos de solo, cultivados ou não, em profundidades variáveis de 0-40cm ou mais (Carneiro, 1986). Freqüentemente tem sido isolado a partir de diferentes hospedeiros ou de substratos provenientes de várias localidades (Faria e Tigano, 1996; Sosa-Gomez, 2002), com distribuição cosmopolita e maior freqüência em solos agricultáveis (Domsch et al., 1980).

Para tanto, o estudo de um isolado de *P. lilacinus* que tenha um alto índice de parasitismo sobre ovos de *M. paranaensis* e sua melhor formulação (pó ou emulsão) precisa ser feito, para viabilizar a aplicação deste produto biológico em áreas de produção cafeeira altamente infestadas com *Meloidogyne paranaensis* e proporcionar uma maior confiabilidade do produtor em aplicar o produto em questão.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação na Universidade Estadual de Londrina, no Centro de Ciências Agrárias. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados contendo nove tratamentos (Isolado Pae 18 pó e emulsão; Isolado Pae 22 pó e emulsão; Nemat pó e emulsão; Nemaplus®; Testemunha inoculada com *M. paranaensis* e testemunha sem a inoculação do nematóide) e cada tratamento com 10 replicas.

Para início de experimento, foram transplantadas uma muda de café cv. IAPAR 59, considerada suscetível para *M. paranaensis*, por saco de plástico de 3 L contendo como substrato solo e areia lavada na proporção de 1:2.

O inóculo de *M. paranaensis* foi multiplicado em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) cv. Santa Cruz, a partir das quais foi feita a extração dos ovos, segundo a metodologia de Boneti e Ferraz (1981), formando uma suspensão ajustada para concentração média de 1.000 ovos e eventuais juvenis.ml-1 e foi inoculado 5.000 ovos e eventuais juvenis por planta.

Passados cinco dias da inoculação do nematóide foram aplicados 2 gramas ou ml de cada produto em questão por planta. E após 60 dias foram avaliados a altura das plantas; diâmetro de caule; peso fresco da parte aérea e sistema radicular e massas de ovos por sistema radicular, por meio da imersão em solução de floxina B 0,015%, durante 15 minutos, para coloração das mesmas; número de juvenis que penetraram nas raízes, segundo a metodologia de Bird et al., 1983; extração dos ovos (Boneti e Ferraz, 1981).

Os dados obtidos aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos foram submetidos às análises de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os resultados, o parasitismo do *Meloidogyne paranaensis* não afetou o caule do cafeeiro. Com relação a altura, também não houve influência por parte desse nematóide porem o Pó do isolado Pae 22 proporcionou melhores condições para seu crescimento. Esses resultados são semelhantes aos observados por Arruda (1960), o qual cita que em plantas infestadas com espécies do gênero *Meloidogyne*, o crescimento, a translocação de água e nutrientes e a produção do cafeeiro são seriamente comprometidos.

Tabela 1. Efeito de isolados e formulações de *Paecilomyces lilacinus* sobre o desenvolvimento das plantas de café inoculadas com *Meloidogyne paranaensis*.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro do Caule		Peso (g)	
		(cm)		Parte aérea	Raízes
Pae 22 Emulsão	35,08b	0,48a		9,59a	14,30a
Pae18 Emulsão	38,37ab	0,52a		16,15a	16,87a
Pae18 Pó	35,84ab	0,47a		13,79a	15,00a
Nemaplus	36,00ab	0,52a		14,57a	16,30a
Nemat Pó	37,67ab	0,49a		13,51a	13,56a
Testemunha					
Inoculada	37,43ab	0,48a		14,66a	13,88a
Pae22 Pó	39,76a	0,52a		12,43a	15,22a
Nemat Emulsão	37,57ab	0,52a		14,02a	11,29a
Testemunha não inoculada	37,98ab	0,53a		11,93a	11,95a
CV (%)	7,73	59		31,09	35,06

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

O peso fresco do da parte aérea e do sistema radicular não foi alterado pelo *M. paranaensis* (Tabela 1).

No experimento, a população de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. paranaensis* no solo foi reduzida quando os isolados testados na formulação Pó e Emulsão foram aplicados no café. Da mesma forma, a população de ovos por sistema radicular foi reduzida por todos os isolados testados, nas duas formulações, comparados com a testemunha, sendo que o Pó Nemat teve desempenho inferior e significativo, (Tabela 2).

La Mondia e Brodie (1984), apontaram que ovos nos estádios iniciais do desenvolvimento embriogênico são mais facilmente parasitados do que quando possuem o juvenil de segundo estágio (J2) já formado, o que explicaria a baixa eficiência da maioria dos isolados de *P. lilacinus* contra os J2 de *M. paranaensis* no solo, (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de isolados e formulações de *Paecilomyces lilacinus* na população de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne paranaensis* no solo e raízes em mudas de café.

Tratamentos	Nº de J2 por 250 cc de solo	Nº de Ovos nas raízes	Penetração de J2 nas raízes
Pae 22 Emulsão	01,00a	692,00cd	1,30abc
Pae18 Emulsão	20,00a	872,00bcd	1,05abc
Pae18 Pó	40,00a	744,00cd	2,65 <sup>a</sup>
Nemaplus	20,00a	920,00bcd	1,40abc
Nemat Pó	60,00a	2842,00a	1,80abc
Testemunha			
Inoculada	14,00a	2200,00ab	0,50bc
Pae22 Pó	20,00a	1762,00abc	2,25ab
Nemat Emulsão	40,00a	390,00cd	2,25ab
Testemunha não inoculada	00,00a	0,00d	0,00c
CV(%)	78,92	105,97	106,93

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

Quanto ao número de ovos nas raízes, todos os isolados mostraram capacidade na redução destes nas raízes em comparação com a testemunha, especialmente o tratamento onde se utilizou todos os isolados em mistura na formulação em emulsão, do isolado Pae 22 na formulação em emulsão e do isolado Pae 18 na formulação em Pó. Resultados semelhantes foram verificados por Cabanillas et al. (1989a) e Freitas et al. (1999), trabalhando com as espécies *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) e *M. javanica* em tomateiros tratados com diferentes isolados de *P. lilacinus*.

Com relação ao efeito dos isolados de *P. lilacinus* sobre a penetração de J2 de *M. paranaensis* nas raízes, os dados foram variáveis, verificando-se que os isolados reduziram a população de juvenis no solo.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, foi constatado que o fungo *Paecilomyces lilacinus* tanto em pó quanto em emulsão não afetaram a altura, diâmetro, peso fresco da parte aérea e raízes do cafeeiro.

A população de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. paranaensis* no solo foi reduzida pelos isolados testados na formulação Pó e Emulsão.

Todos os isolados mostraram capacidade na redução do número de ovos nas raízes em comparação com a testemunha, especialmente o tratamento onde se utilizou todos os isolados em mistura (Nemat) na formulação em emulsão, ao isolado Pae 18 na formulação Pó e ao isolado Pae 22 na formulação em Emulsão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by nematodes. In: GEORGE, N. AGRIOS, F.N. (Ed.). **Plant Pathology**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.565-97.
- ARRUDA, H. V. de. Redução no crescimento de cafeeiro com um ano de campo, devido ao parasitismo de nematóides. *Bragantia*, v.19, p.179-82, 1960.
- CABANILLAS, E.; Barrer, K. R.; Nelson, L. A. Growth of isolates of *Paecilomyces lilacinus* on their efficacy in biocontrol of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.21, n.2, p.164-172, 1989a.
- CAMPOS, V.P., SIVAPALAN, P. & GNANAPRAGASAM, N.C. Nematode parasites of coffee, cocoa and tea. In: Luc, M., Sikora, R.A. & Bridge, J. (Eds.). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Wallingford. CABI Publishing, CAB International. 1990. pp.387-430.
- CAMPOS, V.P. Controle de doenças: Doenças causadas por nematóides In: Vale, F.X.R. & Zambolim, L. (Eds.). *Controle de Doenças de Plantas*. Volume 1. Viçosa. UFV. 1997. pp. 141- 179.
- CARNEIRO, R. M. D. G. **Estude des Possibilities D'utilisation du Champignon Nematophage *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson, 1974, Comme Agent de Lutte Biologique contre *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889), Chitwood, 1949.** (Tese de Doutorado). 119p. Academie de Montpellier. Universite des Sciences etTechniques du Languedoc. France. 1986.
- COSTA, M.J.N. Filtrados de culturas fúngicas e esterco animais, com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Tese de Mestrado). Lavras: Universidade Federal de Lavras. 2000.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W. **Compendium of soil fungi**. (Eds.). New York: Academic Press, 1980. 859p.
- DUNN, M. T.; SAYRE, M. R.; CARREL, A.; WERGIN, P. **Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson as observed with scanning electron microscope**. SEM/1982/III. Scanning Electron Microscopy, Inc., Chicago. pp. 1351-1357. 1982.
- FARIA, M.R.; TIGANO, M.S. **Coleção de fungos entomopatogênicos do Cenargen**. (Eds.). Brasília: Embrapa, Serviço de Produção e Informação, 1996. 76p.
- FREITAS, L. G. ; FERAZ, S.; ALMEIDA, A. M. S. . Controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro pela produção de mudas e substrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. **Nematologia Brasileira**, Brasília - DF, v. 23, n. 1, p. 65-73, 1999.
- HALLMAN, J. & SIKORA, R.A. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soilborne plant pathogenic fungi. *European Journal of Plant Pathology* 102:155-162. 1996.
- LA MONDIA, J. A.; BRODIE, B. B. An observation chamber technique for evaluating potencial biocontrol agents of *Globodera rostochiensis*. **Journal of Nematology**. v.16, n.1, p.112-115. 1984.
- KERRY, B.R., SIMONN, A. & ROVIRA, A.D. Observations on the introductions of *Verticillium chlamydosporium* and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*. *Annals of Applied Biology* 105:509-516. 1984.
- KERRY, B.R. An assessment of progress toward microbial controle of plant parasitic nematode. **Journal of Nematology**, v. 22, n.45, p.621-631, 1990.
- MANKAU, R. Biocontrol: fungi as nematode control agents. *Journal of Nematology* 12:1- 4. 1979.
- SAIFULLAH, N. Nematicidal and nematostatic effect of cell-free culture filtrates of *Verticillium chlamydosporium* Goddard *in vitro*. *Afro Asian Journal of Nematology* 6:32-35. 1996.
- SOSA-GOMEZ, D.R. **Fungos entomopatogênicos: catálogo de isolados**. (Eds.). Londrina: Embrapa Soja, 2002. v.1, p.1-32. (Série Documentos).