

PAULO AFONSO FERREIRA

**FORMULAÇÃO DE CONDICIONADOR DE SOLO PARA USO EM COVAS DE
PLANTIO DE CAFÉ, VISANDO AO CONTROLE DE *MELOIDOGYNE EXIGUA***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitopatologia, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

PAULO AFONSO FERREIRA

FORMULAÇÃO DE CONDICIONADOR DE SOLO PARA USO EM COVAS DE PLANTIO DE CAFÉ, VISANDO AO CONTROLE DE *MELOIDOGYNE EXIGUA*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de julho de 2008

Prof. Leandro Grassi de Freitas
(Co-Orientador)

Prof^ª. Rosângela D'Arc de Lima Oliveira

Dr. Trazilbo José de Paula Júnior

Prof. Antônio Carlos Ribeiro

Prof. Silamar Ferraz
(Orientador)

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F383f
2008

Ferreira, Paulo Afonso, 1981-
Formulação de condicionador de solo para uso em covas
de plantio de café, visando ao controle de
Meloidogyne exigua / Paulo Afonso Ferreira
– Viçosa, MG, 2008.
x, 63f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Silamar Ferraz
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Café. 2. Nematóide-das-galhas - controle. 3. Resíduos
agrícolas. 4. Pragas agrícolas - controle biológico
5.*Meloidogyne exigua*. 6. Solos – condicionadores.
I. Universidade Federal de Viçosa. II.Título.

CDD 22.ed. 632.6257

“Uma mente que se abre para uma nova idéia nunca volta para o seu tamanho normal...”

(Albert Einstein)

A Deus, acima de tudo e de todos,

Aos meus pais AFONSO e ANA,

Aos meus irmãos, SANDRA e RICARDO,

Aos meus sobrinhos STEPHANIE e MARCO TÚLIO,

À minha namorada KARINA,

Aos meus amigos,

Dedico!!!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, pela vida e por me dar forças nos momentos difíceis desta caminhada.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realizar este Curso de Mestrado.

Ao professor Silamar Ferraz, pela orientação, pelos vastos ensinamentos transmitidos (pessoais e profissionais), pelo respeito e pela paciência durante todos estes anos, desde a iniciação científica.

Aos meus conselheiros, Prof. Leandro Grassi de Freitas e Dr. Everaldo Antônio Lopes, pelas críticas e sugestões durante a elaboração deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa durante o período de pós-graduação.

À minha turma de mestrado 2007, em especial, ao Douglas e ao Hέλvio.

À “família” do Laboratório de Nematologia que me acolheu como mais um de seus membros. Em especial ao Everaldo, pela amizade, ensinamentos transmitidos e pela paciência durante todos estes anos; ao Marcelo, Wânia, Rosangela e Deisy, pela amizade e convivência. Não posso deixar de agradecer aos que já passaram e conviveram comigo no laboratório e também aos recém chegados: Janaína, Alessandro, Fernanda, Guilherme, Larissa, Marilene, Débora, Ronaldo e Vanessa.

Aos meus pais, Afonso e Ana, pelo amor, carinho, compreensão e apoio incondicional.

Aos meus irmãos Sandra e Ricardo, pelo apoio, amizade e pelo alegre convívio e ao meu cunhado, Marco Antônio, por ter influenciado na minha escolha profissional.

Aos meus sobrinhos Stephanie e Marco Túlio, pelo amor e amizade.

À minha namorada Karina, pelo amor, pelo companheirismo e pela dedicação.

À minha família, pelo apoio e, em especial, ao meu primo André, pela amizade e ajuda nos estudos, e aos meus avós “*in memoriam*”, vovô Pereira e vovó Tânia, por terem sido exemplos de vida para mim.

A todos que, diretamente ou indiretamente, contribuíram por mais este êxito, o meu humilde MUITO OBRIGADO!

BIOGRAFIA

PAULO AFONSO FERREIRA, filho de Afonso Soares Ferreira e Ana Maria Pereira Ferreira, nasceu em 01 de maio de 1981, em Viçosa, Estado de Minas Gerais.

Em 2001 iniciou o Curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Em 2003 e 2004 foi bolsista de Iniciação Científica no Departamento de Fitopatologia, sob a orientação do Professor Silamar Ferraz.

Em março de 2007 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da UFV (nível de mestrado), sob a orientação do Professor Silamar Ferraz, submetendo-se à defesa da dissertação em julho de 2008.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
REVISÃO DE LITERATURA	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPÍTULO 1	
EFEITO DE <i>Pochonia chlamydosporia</i> E <i>Trichoderma</i> sp. NO CONTROLE DE <i>Meloidogyne exigua</i> EM PIMENTÃO.	
RESUMO	11
SUMMARY	13
INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO 2	
FORMULAÇÃO DE UM CONDICIONADOR DE SOLO COM PROPRIEDADES NEMATICIDAS PARA O PLANTIO DE CAFEIEIRO.	
RESUMO	29
SUMMARY	31
INTRODUÇÃO	32
MATERIAL E MÉTODOS	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
CONCLUSÕES GERAIS	63

RESUMO

FERREIRA, Paulo Afonso, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2008. **Formulação de condicionador de solo para uso em covas de plantio de café, visando ao controle de *Meloidogyne exigua***. Orientador: Silamar Ferraz. Co-Orientadores: Everaldo Antônio Lopes e Leandro Grassi de Freitas.

Meloidogyne exigua causa grandes prejuízos à cafeicultura brasileira, principalmente em cafeeiros arábica recém plantados, pois está amplamente disseminado nas principais regiões produtoras. Além dos danos causados por *M. exigua*, a importância do patógeno é justificada pela dificuldade e pelos altos custos envolvidos no seu controle. O uso indiscriminado de nematicidas, além de onerar o custo de produção, pode colocar em risco a saúde dos aplicadores, dos consumidores e contaminar o meio ambiente. Dessa forma, métodos alternativos para o manejo de nematóides são cada vez mais desejáveis, destacando-se o uso de fungos nematófagos aliado à incorporação de matéria orgânica. Os objetivos do presente trabalho foram estudar a interação entre *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma* sp.; avaliar o efeito de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. sobre *M. exigua*; verificar o efeito de condicionadores formulados para o plantio de cafeeiros em solo infectado com *M. exigua*, em testes em casa-de-vegetação e avaliar a viabilidade do armazenamento do condicionador. Os isolados Pc-10 de *P. chlamydosporia* e o T-1 de *Trichoderma* sp. foram submetidos a testes de confrontação direta, antibiose, produção de metabólitos voláteis e interação entre hifas para avaliar a compatibilidade entre eles. Não houve incompatibilidade entre *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. nos teste de confrontação direta, antibiose e interação entre hifas. No teste de produção de metabólitos voláteis, o crescimento micelial de *P. chlamydosporia* foi reduzido na presença de *Trichoderma* sp. Ao se avaliar os isolados de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp., quando aplicados ao solo separadamente ou em conjunto em substratos colonizados, não houve redução da população de *M. exigua* em casa-de-vegetação. Os isolados de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. foram adicionados à matéria orgânica e fertilizantes inorgânicos com o intuito de formular um condicionador de solo para a sua aplicação em covas de plantio. A aplicação do condicionador em solo argiloso promoveu um melhor desenvolvimento das mudas de cafeeiros influenciando no número de folhas, diâmetro de copa, altura e massa da matéria seca da parte aérea. No entanto, não teve influência no desenvolvimento das mudas de cafeeiro cultivadas em solo arenoso. O condicionador de solo reduziu a reprodução de *M. exigua* nesses solos. A sua aplicação teve

tendência de melhorar as características químicas do solo argiloso e arenoso, melhorando os teores dos nutrientes na parte aérea das plantas de cafeeiro cultivadas nesses solos. Visando avaliar o efeito das condições de armazenamento do condicionador de solo na viabilidade dos isolados fúngicos, o produto foi acondicionado em sacos de polietileno transparente e escuro, saco de papel e de aniagem. O armazenamento do condicionador de solo em sacos de polietileno transparente e escuro manteve a população de *Trichoderma* sp. viável por 90 dias em níveis maiores do que quando foi formulado, mas a população de *P. chlamydosporia* caiu drasticamente em todas as embalagens, até o 15º dia, permanecendo viável em níveis baixo. O condicionador de solo se mostrou uma alternativa viável no controle de *M. exigua* no plantio de cafeeiros.

ABSTRACT

FERREIRA, Paulo Afonso, M. Sc., Federal University of Viçosa, July, 2008. **Formulation of soil conditioner for using in holes of coffee planting, aiming the control of *Meloidogyne exigua*.** Adviser: Orientador: Silamar Ferraz. Co-advisers: Everaldo Antônio Lopes and Leandro Grassi de Freitas.

Meloidogyne exigua causes big damages to the Brazilian coffee culture, mainly in newly planted Arabica coffee cultures, because it is widely disseminated in the main producing regions. Besides the damage caused by *M. exigua*, the significance of this pathogen is justified by the difficulty and the high costs involved in its control. The indiscriminate use of nematocide, can put in risk the health of the applicators, the health of the consumers and it can contaminate the environment, moreover it can charge the cost of production. Therefore, alternative methods for controlling the management of nematodes are more and more desirable, because of this the use of nematophagus fungus combined to the incorporation of organic matter has been highlighted. The aims of the present work were to study the interaction between *Pochonia chlamydosporia* and *Trichoderma* sp.; to evaluate the effect of *P. chlamydosporia* and *Trichoderma* sp. on *M. exigua*; to verify the effect of formulated conditioners on the planting of coffee culture in soils infected with *M. exigua*, in trials in greenhouses and to evaluate the feasibility in storing the conditioner. The isolates Pc-10 from *P. chlamydosporia* and T-1 from *Trichoderma* sp. were submitted to tests of direct confrontation, antibiosis, production of volatile metabolites and interaction between hyphas in order to evaluate the compatibility among them. There was no incompatibility between *P. chlamydosporia* and *Trichoderma* sp. in the direct confrontation test, antibiosis and interaction between hyphas. In the volatile metabolite test, the mycelial growing of *P. chlamydosporia* was reduced in the presence of *Trichoderma* sp. When the isolates of *P. chlamydosporia* and *Trichoderma* sp. were evaluated there was no reduction of population of *M. exigua* in greenhouse when they were separately applied in the soil or grouped in colonized substratos. The *P. chlamydosporia* and *Trichoderma* sp. isolates were added to organic matter and inorganic fertilizers in order to formulate a soil conditioner to its application in planting holes. The application of soil conditioner in clay soil promoted a better development of the coffee seedlings influencing in the number of leaves, diameter of the canopy, height and the aerial section dry matter weight. However, it didn't influence the development of

coffee seedlings growing in sandy soil. The soil conditioner reduced the reproduction of *M. exigua* in those soils. Its application tended to improve the chemical characteristics of the clay and sandy soils, improving the levels of nutrients in the aerial section of coffee plants growing in those soils. Because it was aimed to evaluate the effect of storing condition of the soil conditioner in the feasibility of fungical isolated, the product was conditioned in transparent and dark polyethylene sacs, paper bags and sackcloths. The storing of soil conditioner in transparent and dark polyethylene sacs kept the population of *Trichoderma* sp. viable for 90 days in higher levels than when it was formulated, but the population of *P. chlamydosporia* fell dramatically in all packages until the day 15, remaining viable in low levels. The soil conditioner was shown as a viable alternative in the control of *M. exigua* in the coffee planting.

Revisão de Literatura

O cafeeiro é uma dicotiledônea perene que pode ser cultivada na região entre os Trópicos de Câncer e de Capricórnio. Possui grande relevância econômica para vários países tropicais, constituindo um dos principais produtos agrícolas no mercado internacional, sendo cultivado em mais de 70 países (FAO, 2007).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café. A cultura tem grande importância social e econômica, gerando cerca de 9 milhões de empregos diretos e indiretos, movimentando aproximadamente 3,4 bilhões de dólares para o país (Caixeta, 2001).

A produção nacional de café estimada para safra de 2007/2008 é de 32,6 milhões de sacas de café beneficiado. Desse total, 69 % são de café arábica (*Coffea arabica* L.) e 31 % são de café robusta (*C. canephora* Pierre ex Froehner). A área cultivada é de 2,2 milhões de hectares. Desse total, 91,6 % estão em produção e os 8,4 % restantes estão em formação. Minas Gerais destaca-se como o maior produtor nacional de café, com 45,3 % da produção brasileira, e primeiro produtor de café arábica. Entre os fatores que influenciam as perdas de produtividade da cultura, os fitossanitários são de grande importância (Conab, 2007).

Os fitonematóides são responsáveis por grandes perdas na agricultura em todo o mundo, inviabilizando o cultivo em determinadas áreas. Os nematóides causadores de galhas radiculares, *Meloidogyne* spp., são um dos principais patógenos agrícolas, em função de sua ampla distribuição, vasta gama de hospedeiros e elevados prejuízos provocados. No Brasil, como em outras partes do mundo, os nematóides-das-galhas têm sido encontrados associados a culturas de grande importância econômica e são fator limitante à produção de algumas delas, como algodão, batata, café, cana-de-açúcar, cenoura, fumo, soja, tomate, dentre outras (Lordello, 1982).

Entre as várias espécies de *Meloidogyne* que infectam plantas de interesse econômico em diversas partes do mundo, foram relatadas a associação de 17 espécies com as raízes do cafeeiro. Entre elas, sete são encontradas no Brasil: *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. exigua* Goeldi, *M. javanica* (Treub.) Chitwood, *M. hapla* Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. paranaensis* Carneiro *et al.* e *M. coffeicola* Lordello & Zamith (Campos, 1997).

M. exigua causa grandes prejuízos à cafeicultura brasileira, pois está amplamente disseminado no País, especialmente nas principais regiões produtoras (Campos *et al.*, 1985; Gonçalves & Silvarolla, 2001; Oliveira *et al.*, 2001). Essa espécie de nematóide é importante em cafeeiros arábica recém-plantados e, mesmo não sendo a espécie mais agressiva, chega a causar perdas da ordem de 45 % (Barbosa *et al.*, 2004).

Além dos danos causados por *M. exigua*, a importância do patógeno é justificada pela dificuldade e os altos custos envolvidos no seu controle. O princípio da exclusão é o mais importante quando se pensa no manejo de qualquer nematóide, ou seja, o agricultor deve evitar o estabelecimento deste organismo em local onde ele não ocorra. A partir do momento que a área foi infestada, a sua erradicação torna-se praticamente impossível e as medidas de controle que serão adotadas visarão apenas à redução na população dos nematóides no solo (Ferraz *et al.*, 2001).

Na redução da densidade populacional desses fitopatógenos, algumas medidas podem ser adotadas, como o controle químico, a rotação de culturas e o uso de variedades resistentes. O uso de variedades resistentes, embora seja o método ideal de controle de doenças, nem sempre é possível, pois depende da disponibilidade de genótipos que combinem características de resistência com qualidades agronômicas (Dropkin, 1969; Freitas *et al.*, 1999; Ferraz *et al.*, 2001). Uma alternativa seria utilizar a técnica de enxertia em cafeeiros; no entanto, trata-se de um processo muito meticuloso, que exige pessoal treinado, infraestrutura adequada, respaldo técnico, bases físicas, recursos materiais, humanos e financeiros (Cambráia, 1999 citado por Rezende *et al.*, 2003). A rotação de culturas, embora seja desejável, normalmente é de difícil aplicação por ser o cafeeiro uma cultura perene (Halbrendt & LaMondia, 2005). O controle químico, baseado no uso de nematicidas, tem tido espaço limitado na agricultura mundial, principalmente a partir da década de 80, com a retirada de vários produtos do mercado, devido à sua persistência no solo, à contaminação dos lençóis freáticos e aos efeitos prejudiciais aos seres humanos e à fauna do planeta. Somam-se a estes fatores os altos custos e a eficiência temporária de alguns produtos (Jatala, 1986; Stirling, 1991; Kerry, 2001).

Vislumbrando novas táticas de controle dos nematóides, em função da crescente pressão pública por uma agricultura que cause menos impactos ambientais, métodos alternativos têm sido estudados, como o controle biológico e a incorporação ao solo de matéria orgânica.

O termo “controle biológico” é definido como sendo a redução da população de um organismo alvo por outro organismo vivo, que não plantas resistentes (Stirling, 1991). Este controle pode ocorrer naturalmente, através do equilíbrio biológico natural da microbiota do solo, ou de forma induzida, implementado por programas que visam aumentar a população e a atividade dos antagonistas dos nematóides (Jatala, 1986; Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995).

Entre os diversos inimigos naturais dos nematóides comumente encontrados nos solos, os que apresentam maior potencial como agentes de controle biológico são as bactérias e os fungos (Jatala, 1986; Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995). Os fungos nematófagos, são os organismos mais estudados e apresentam estratégias sofisticadas para infectar ou capturar os nematóides, podendo ser divididos em: predadores, endoparasitas, oportunistas (parasitas de ovos e de fêmeas sedentárias) e aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides (Mankau, 1980; Jatala, 1986; Stirling, 1991).

Os fungos endoparasitas, como por exemplo, *Catenaria*, *Haptoglossa*, *Hirsutella*, *Nematoctonus*, apresentam esporos que são ingeridos pelos nematóides ou ficam aderidos à sua cutícula. Os conídios, ao germinarem, dão origem a hifas que parasitam o corpo do nematóide. Apresentam pouco potencial de uso como agentes de controle biológico por serem pouco competitivos, dependerem muito da umidade do solo, não crescerem muito no solo e serem sensíveis a variações de pH, metais, sais, etc (Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995).

Os fungos predadores são os mais comuns e abundantes em solos naturais e agrícolas e em todo o tipo de material em decomposição, representados pelos gêneros *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium*. São caracterizados pela produção de órgãos especializados de captura de nematóides ao longo da hifa, conhecidos como armadilhas (Stirling, 1991).

Um grupo de fungos nematófagos que apresenta grande potencial no controle biológico de nematóides é o dos fungos oportunistas ou parasitas de ovos e de fêmeas, com destaque para as espécies *Paecilomyces lilacinus* (Thomn.) Samson e *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams, conhecida anteriormente como *Verticillium chlamydosporium*. Normalmente, esses fungos são saprofíticos, logo, independem da presença de ovos de nematóides no solo para a sua sobrevivência, crescendo satisfatoriamente em matéria orgânica. Em função dessa característica, são mais fáceis de estabelecer no solo, quando comparados com os fungos predadores. Colonizam rapidamente ovos e fêmeas de nematóides, destruindo de uma só vez grande quantidade de indivíduos, especialmente no caso do nematóide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) e do nematóide-dos-cistos (*Heterodera* spp., *Globodera* spp) (Stirling, 1991).

Quanto aos fungos produtores de metabólitos tóxicos, representados por *Aspergillus*, *Pleurotus*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Myrothecium*, muitos estudos sobre o efeito das possíveis substâncias tóxicas produzidas por tais fungos no controle de nematóides ainda devem ser conduzidos. Portanto, a pesquisa na área de micotoxinas no controle de patógenos vem crescendo. Atualmente, existe no mercado mundial um produto obtido da fermentação de

M. verrucaria (Alb. & Schwein) Ditmar, registrado como DiTera[®]. Além disso, *Trichoderma* spp. é um conhecido agente de controle biológico de fungos fitopatogênicos (Papavizas, 1985; Elad *et al.*, 1993), carecendo apenas de mais investigações sobre sua ação no manejo de nematóides (Spiegel & Chet, 1998; Sharon *et al.*, 2001).

A literatura mundial está repleta de trabalhos explorando o controle biológico de nematóides (Jatala, 1986; Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995; Siddiqui & Mahmood, 1996; Freitas & Carneiro, 2000). Entretanto, a grande maioria das abordagens aplicadas ao controle biológico de doenças de plantas tem sido baseada no uso de um único antagonista contra o(s) patógeno(s) alvo(s) (Jatala, 1986; Siddiqui & Shaukat, 2002). Todavia, é provável que na maioria dos casos onde o controle biológico ocorra naturalmente, tal evento seja resultado da mistura de antagonistas, muito mais do que uma alta população de apenas um deles (Siddiqui & Shaukat, 2002; 2003). Em solos supressivos a doenças de plantas, a presença de mais de um agente de biocontrole é considerada como um dos principais fatores que contribuem para este fenômeno (Lemanceau & Alabouvette, 1991; Stirling, 1991). O declínio da população de *Heterodera avenae*, o nematóide-do-cisto-dos-cereais, em áreas agrícolas na Inglaterra, mesmo quando cultivares suscetíveis eram plantados, foi detalhadamente estudado por Kerry (1982). O autor concluiu que a grande população dos fungos nematófagos *Nematophthora gynophila* Kerry & Crump e *Verticillium chlamydosporium* Goddard encontrada nas áreas de plantio era o maior responsável pela supressividade.

Portanto, a introdução de uma mistura de antagonistas provavelmente lograria um maior sucesso no controle biológico, pois aumentaria a eficácia e confiabilidade do controle, em função da ampliação do espectro de atividade, podendo reunir vários mecanismos de ação contra o patógeno alvo (Siddiqui & Shaukat, 2003). Algumas vantagens da combinação de antagonistas no controle biológico podem ser listadas: a) múltiplos modos de ação contra o patógeno alvo; b) habilidade para afetar mais do que um estágio do ciclo de vida do patógeno alvo; c) atividade durante diferentes épocas na estação de crescimento; d) aumentar a consistência do controle em ampla gama de condições de solo; e) potencial para selecionar organismos que afetem mais do que um patógeno ou pragas, aumentando o espectro de uso do produto (Lemanceau & Alabouvette, 1991; Meyer & Roberts, 2002).

A incorporação de matéria orgânica vegetal ao solo é outra prática bem-sucedida no controle de nematóides, adotada por agricultores desde o início do século passado (Ritzinger & McSorley, 1998). Os mecanismos de ação associados com esta técnica são atribuídos, em parte, a fatores como a melhoria das características físicas e químicas do solo (Stirling, 1991), resultando em melhor desenvolvimento das plantas, além do aumento da população de

microrganismos antagonistas aos nematóides (Linford *et al.*, 1938; Sitaramaih & Singh, 1978). Em certos casos, a decomposição destes resíduos resulta na liberação de produtos tóxicos aos nematóides (Stirling, 1991; Gonzaga & Ferraz, 1994). A eficiência de determinado material orgânico no controle de nematóides depende de sua composição química e das espécies de microrganismos relacionados com a sua decomposição. A liberação de compostos tóxicos seria a ação direta da degradação do material orgânico e, provavelmente, promoveria rápida redução na população dos nematóides (Rodríguez-Kábana *et al.*, 1987; Dias-Arieira, 2002). Outros atributos, como a melhoria da estrutura e agregação do solo, da nutrição das plantas também podem favorecer o controle de nematóides (Stirling, 1991). Desta forma, a supressão de fitonematóides pelo uso de matéria orgânica é provavelmente baseada em um complexo modo de ação envolvendo múltiplos mecanismos (Chavarría-Carvajal & Rodríguez-Kábana, 1998).

Quando os fungos nematófagos são aplicados conjuntamente a uma fonte de matéria orgânica, a possibilidade de estabelecimento destes organismos aumenta consideravelmente e, além disso, pode potencializar o controle de nematóides, liberando compostos nematicidas e melhorando a nutrição da planta hospedeira, pela liberação de nutrientes (Cannayane & Rajendran, 2001).

A formulação de condicionadores de solo é uma possibilidade inovadora de veicular agentes de biocontrole e resíduos orgânicos, de maneira a atuarem no manejo de nematóides. Condicionador de solo é definido como sendo um produto que promove a melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (Brasil, 2006). Eles podem variar de acordo com a sua origem e composição, podendo ser compostos por materiais orgânicos, polímeros sintéticos e condicionadores minerais (Hickman & Whitney, 2008). Considera-se que a melhoria das propriedades físicas do solo seja o principal atributo desejável no uso de um condicionador de solo, uma vez que as propriedades químicas podem ser corrigidas com a adubação e a calagem. Portanto, um produto que aumente a atividade biológica do solo e que ainda seja eficiente no controle de nematóides e outros patógenos de solo pode representar grande diferencial no mercado. Lopes *et al.* (2007) estudaram alguns condicionadores de solo para o controle de *M. javanica*, dentre os quais se destacaram as formulações 1D e 2D. A primeira era composta pela mistura de cascas de café (*Coffea arabica* L.) e torta de mamona (*Ricinus communis* L.), na proporção de 4:1 (p/p), acrescida das folhas secas de mamona e de falso-boldo (*Plectranthus barbatus* Andrews), das sementes trituradas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) e de *P. chlamydosporia*. A formulação 2D era semelhante à 1D, exceto pela substituição das cascas de café pela fibra de coco (*Cocos nucifera* L.).

Uma abordagem que merece ser investigada é a possibilidade de formular condicionadores que possam ser aplicados na cova de plantio de culturas perenes, como o cafeeiro. Tais produtos, além de conter todos os nutrientes necessários para a implantação da cultura, seriam enriquecidos com materiais orgânicos, como cascas de café e torta de mamona, além de agentes de controle biológico, como *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp., possibilitando o desenvolvimento das plantas e o controle de nematóides, como *M. exigua*, patógeno que está presente em todas as regiões cafeeicultoras de Minas Gerais. Desta forma, formulou-se a hipótese de que o uso do condicionador de solo no plantio do cafeeiro seria capaz de favorecer o desenvolvimento da planta e apresentar ação supressora sobre a população de *M. exigua*.

Diante desta perspectiva, o presente trabalho tem como objetivos:

- a) Estudar a interação entre *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp.;
- b) Avaliar o efeito de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. sobre *M. exigua*;
- c) Verificar o efeito do condicionador formulado para o plantio de cafeeiros em solo infectado com *M. exigua*, em testes em casa de vegetação;
- d) Avaliar a viabilidade do armazenamento do condicionador para aplicação no plantio de cafeeiros.

Referências Bibliográficas

- BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., VIANA, A.P. & SILVA, C.P. 2004. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira*, 28:49-54.
- BRASIL – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.27, de 05/05/2006.
- CAIXETA, G.Z.T. 2001. Gerenciamento da cafeicultura em época de crise. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) Tecnologias de produção de café com qualidade. Viçosa, Editora UFV, pp. 1-24.
- CAMPOS, V.P., LIMA, R.D. & ALMEIDA, V.F. 1985. Nematóides parasitas do cafeeiro. *Informe Agropecuário*, 11:50-58.
- CAMPOS, V.P. 1997. Café (*Coffea arabica* L.). Controle de doenças: Doenças causadas por nematóides. In: VALE, F.X.R., ZAMBOLIM, L. (Eds.). Controle de doenças de plantas: grandes culturas. UFV, Viçosa, pp. 141-180.
- CANNAYANE, I. & RAJENDRAN, G.SO. 2001. Application of biocontrol agents and oil cakes for the management for *Meloidogyne incognita* in brinjal (*Solanum melongena* L.). *Current Nematology*, 12:51-55.
- CHAVARRÍA-CARVAJAL, J.A. & RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 1998. Changes in soil enzymatic activity and control of *Meloidogyne incognita* using four organic amendments. *Nematropica*, 28:7-18.
- CONAB. 2007. Companhia Nacional de Abastecimento – Secretaria da Produção e Comercialização/CONAB. Safra brasileira de café estimada 2006/2007. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 19 de dezembro de 2007.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. 2002. Controle de *Heterodera glycines* e *Meloidogyne* spp. por gramíneas forrageiras. Universidade Federal de Viçosa, Tese de Doutorado em Fitopatologia, Viçosa, 78p.
- DROPKIN, V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reverse by temperature. *Phytopathology*, 59:1632-1639.
- ELAD, Y.; ZIMMAND, G.; ZAQS, Y.; ZURIEL, S. & CHET, I. 1993. Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. *Plant Pathology*, 42:324-332.
- FAO. Statistical Databases. Crops Primary. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em: 19 de dezembro de 2007.

- FERRAZ, S.; DIAS, C.R. & FREITAS, L.G. 2001. Controle de nematóides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. (ed). Manejo Integrado-Fitossanidade: Cultivo protegido, pivô central e plantio direto. Editora UFV, Viçosa, pp. 1-52.
- FERRAZ, S. & SANTOS, M.A. 1995. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. Revisão Anual de Proteção de Plantas 3:283-314.
- FREITAS, L.G. & CARNEIRO, R.M.D.G. 2000. Controle biológico de fitonematóides por *Pasteuria* spp. IN: MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L. (Eds.). Controle Biológico. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, 388 p.
- FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. 1999. Introdução à nematologia. Editora UFV, Viçosa, 84p. (Cadernos Didáticos, 58).
- GONÇALVES, W. & SILVAROLLA, M.B. 2001. Nematóides parasitos do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) Tecnologias de produção de café com qualidade. Viçosa, Editora UFV, pp.199-267.
- GONZAGA, V. & FERRAZ, S. 1994. Efeito da incorporação da parte aérea de algumas espécies vegetais no controle de *Meloidogyne incognita* raça 3. Nematologia Brasileira, 18:42-49.
- HALBRENDT, J.M. & LAMONDIA, J.A. 2005. Crop rotation and other cultural practices. In: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y & DICKSON, D.W. (Eds.). Nematology: advances and perspectives. CABI publishing, Wallingford, pp. 909-930.
- HICKMAN, J.S. & D.A. WHITNEY. 1988. Soil conditioners. Disponível em: <http://www.oznet.ksu.edu/library/CRPSL2/ncr295.pdf>. Acessado em: 03 de março de 2008.
- JATALA, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology, 24:453-489.
- KERRY, B.R. 2001. Exploitation of the nematophagous fungus *Verticillium chlamyosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). IN: BUTT, T.M.; JACKSON, C. & MAGAN, N. (Eds.). Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential. CAB International, Wallingford, 380p.
- KERRY, B.R.; D.H. CRUMP & L.A. MULLEN. 1982. 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, 100:489-499.
- LEMANCEAU, P. & ALABOUVETTE, C. 1991. Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. Crop Protection, 10:279-286.

- LINFORD, M.B.; FRANCIS, Y. & OLIVEIRA, J.M. 1938. Reduction of soil populations of the root-knot nematode during decomposition of organic matter. *Soil Science*, 45:127-141.
- LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P.A.; CARVALHO, S.L.; FREITAS, L.G.; GARDIANO, C.G. & DHINGRA, O.D. 2007. Formulation of soil conditioners for the control of *Meloidogyne javanica*. Proceedings of XXXIX ONTA Annual Meeting, Córdoba – Argentina, p. 80.
- LORDELLO, L.G.E. 1982. Nematóides das plantas cultivadas. 7 ed. Nobel, São Paulo, 314 p.
- MANKAU, R. 1980. Biocontrol: fungi as nematode control agents. *Journal of Nematology*, 12:244-252.
- MEYER, S.L.F. & ROBERTS, D.P. 2002. Combinations of biocontrol agents for management of plant-parasitic nematodes and soilborne plant pathogenic fungi. *Journal of Nematology*, 34:1-8.
- OLIVEIRA, D.S., LIMA, R.D., ROESE, A.D & SILVA, R.V. 2001. Caracterização morfológica e bioquímica de populações de *Meloidogyne* spp. em cafeeiros na Zona da Mata de Minas Gerais. In: II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Anais, Vitória, ES, pp. 1072-1077.
- PAPAVIZAS, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 23:23-54.
- REZENDE, J.C; MENDES, A.N.G. SOUZA, C.A.S. 2003. Efeitos da enxertia no desenvolvimento de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) produzidos em tubetes. In: Simpósio de pesquisas dos cafés do Brasil. Porto Seguro, BA, pp. 293-294.
- RITZINGER, C.H.S. & McSORLEY, R. 1998. Effect of fresh and dry organic amendments on *Meloidogyne arenaria* in greenhouse experiments. *Nematropica*, 28:173-185.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G. & CHET, I. 1987. Biological control of nematodes: Soil amendments and microbial antagonists. *Plant and Soil*, 100:237-247.
- SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I. HERRERA-ESTRELLA, AA.; KLEIFELD, O. & SPIEGEL, Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 91:687-693.
- SIDDIQUI, I.A. & SHAUKAT, S.S. 2002. Mixtures of plant disease suppressive bacteria enhance biological control of multiple tomato pathogens. *Biol. Fertil. Soils*, 36:260-268.
- SIDDIQUI, I.A. & SHAUKAT, S.S. 2003. Combination of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pochonia chlamydosporia* for control of root-knot infecting fungi in tomato. *Journal of Phytopathology*, 151:215-222.

- SIDDIQUI, Z.A. & MAHMOOD, I. 1996. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. *Bioresource Technology*, 58:229-239.
- SITARAMAIAH, K. & SINGH, R.S. 1978. Effect of organic amendment on phenolic content of soil and plant response of *Meloidogyne javanica* and its host to related compounds. *Plant and Soil*, 50:671-679.
- SPIEGEL, Y. & CHET, I. 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. *Integrated Pest Management Reviews*, 3:169-175.
- STIRLING, G.R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and perspectives. CAB International, Wallingford, 282p.

Capítulo - 1

Efeito de *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. no controle de *Meloidogyne exigua* em pimentão.*

PAULO AFONSO FERREIRA^{1,2}, SILAMAR FERRAZ², EVERALDO ANTÔNIO LOPES²,
LEANDRO GRASSI DE FREITAS² & RONALDO JOÃO FALCÃO ZOOCA²

*Parte da dissertação do primeiro autor para obtenção do grau de Mestre pela Universidade Federal de Viçosa (MG), Brasil.

¹Bolsista do CNPq

²Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 36571-000, Viçosa (MG)
Brasil.

Autor para correspondência: pafonsoferreira@uol.com.br

Recebido para publicação em xx/xx/2008. Aceito em xx/xx/2008

Resumo – Ferreira, P.A.; Ferraz, S.; Lopes, E.A.; Freitas, L.G. & Zooca, R.J.F. 2008. Efeito de *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. no controle de *Meloidogyne exigua*.

O isolado Pc-10 de *Pochonia chlamydosporia* e o isolado T-1 de *Trichoderma* sp. foram submetidos a testes para verificar a compatibilidade entre ambos. No teste de produção de metabólitos voláteis, tampas de placas de Petri foram posicionadas umas sobre as outras, após ter sido vertido o meio batata-dextrose-água (BDA). Na superfície da tampa inferior, foi plaqueado o isolado T-1 e, na superior, o isolado Pc-10. As placas foram vedadas lateralmente com membrana plástica e, em seguida, foram mantidas a 26 °C, por 7 dias, sob luz contínua. Neste teste, o crescimento micelial de *P. chlamydosporia* foi reduzido na presença de *Trichoderma* sp. Nenhum efeito no crescimento de ambos os isolados foi observado nos demais testes (confrontação direta, antibiose e interação entre hifas). Os isolados Pc-10 de *P. chlamydosporia* e T-1 de *Trichoderma* sp. foram testados em casa-de-vegetação visando ao controle de *M. exigua*. O inóculo de *P. chlamydosporia* foi produzido em milho triturado autoclavado e o de *Trichoderma* sp. foi produzido em arroz autoclavado. Os inóculos dos fungos (1 g de substrato colonizado por quilograma de solo) e do nematóide (5.000 ovos) foram adicionados ao solo em vasos de 2 L e uma muda de pimentão foi transplantada em

cada vaso após 15 dias. Os fungos e seus respectivos substratos não colonizados foram aplicados isoladamente ou em conjunto. A testemunha foi representada por plantas cultivadas em solos apenas infestados pelo nematóide. O peso da parte aérea, além do número de galhas e de ovos por sistema radicular foram avaliados após 60 dias. O peso da parte aérea, o número de galhas e o número de ovos não foram influenciados pela aplicação dos isolados separadamente ou em conjunto, provavelmente devido à dificuldade desses fungos antagonistas de colonizar a massa de ovos de *M. exigua*, que são produzidas internamente nas raízes.

Summary – Ferreira, P.A.; Ferraz, S.; Lopes, E.A.; Freitas, L.G. & Zooca, R.J.F. 2008. Effect of *Pochonia chlamydosporia* and *Trichoderma* sp. on the control of *Meloidogyne exigua*.

The isolate Pc-10 from *Pochonia chlamydosporia* and the T-1 from *Trichoderma* sp. were submitted to trials to verify the compatibility among both of them. In the volatile metabolites production trials, caps of Petri plates were placed one above each other, after the medium potato-dextrose-agar (PDA) had been poured. In the surface of the inferior cap, it was plated the isolate T-1 and, on the superior plate, the isolate Pc-10. The plates were closed on the lateral with plastic membrane and, after that, they were maintained at 26 °C, for seven days under continuous light. In this trial, the mycelial growth of *P. chlamydosporia* was reduced in the presence of *Trichoderma* sp. No effect in the growth of both of the isolates was observed in the other trials (direct confrontation, antibiosis and interaction among hyphas). The *P. chlamydosporia* (Pc-10) and *Trichoderma* sp. (T-1) isolates were tested in greenhouses aiming to observe the control of *M. exigua*. *P. chlamydosporia* inoculum was produced in autoclaved grinded corn and the one of *Trichoderma* sp. was produced in autoclaved rice. The inoculums of the fungus (1 g from the colonized substrate per kilogram of soil) and from the nematode (5,000 eggs) were added to the soil in 2 L vases and a seedling of green pepper was transplanted to each vase after 15 days. The fungus and their respective substrates non colonized were applied isolated or in grouping. The witness was represented by plants cultivated in soils which were infected only by the nematode. The aerial section weight, besides the number of galls and the number of eggs per root system were evaluated after 60 days. The aerial section weight, the number of galls and the number of eggs weren't influenced by the application of isolates separately or in grouping, probably because of the difficulty of these antagonists fungus in colonizing the egg mass of *M. exigua*, which are produced in the roots.

Introdução

Os fitonematóides causam perdas elevadas na agricultura em todo mundo, podendo inviabilizar o cultivo em determinadas áreas, principalmente os nematóides causadores de galhas radiculares, *Meloidogyne* spp., por apresentarem ampla distribuição, vasta gama de hospedeiros e alta capacidade reprodutiva (Lordello, 1982).

M. exigua Goeldi é capaz de parasitar culturas como cafeeiro (*Coffea arabica* L.), tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), pimentão (*Capsicum annuum* L.) e seringueira (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.) (Carneiro & Almeida, 2000). Causa grandes perdas à cafeicultura brasileira, pois está amplamente disseminado no País, especialmente nas principais regiões produtoras (Campos *et al.*, 1985; Gonçalves & Pereira, 1998; Gonçalves & Silvarolla, 2001; Oliveira *et al.*, 2001). Essa espécie de nematóide é importante em cafeeiros arábica recém-plantados e, mesmo não sendo a espécie mais agressiva, chega a causar perdas da ordem de 45 % (Barbosa *et al.*, 2004).

Além dos danos causados por *M. exigua*, a importância do patógeno é justificada pela dificuldade e os altos custos envolvidos no seu controle (Ferraz *et al.*, 2001). Medidas de controle, como o uso de variedades resistentes, controle químico e rotação de culturas, apresentam algumas limitações, principalmente o controle químico, razão pela qual a busca por novas alternativas de controle de nematóides é, atualmente, uma preocupação mundial (Stirling, 1991; Freitas *et al.*, 1999; Ferraz *et al.*, 2001; Kerry, 2001; Halbrendt & LaMondia, 2005).

Dentro deste enfoque, diversas pesquisas são realizadas envolvendo o controle biológico. Os fungos são os agentes de controle biológico de nematóides mais estudados e, juntamente com as bactérias, são os que apresentam maior potencial de uso na agricultura. Eles apresentam estratégias sofisticadas para infectar ou capturar os nematóides, podendo ser divididos em: predadores, endoparasitas, oportunistas (parasitas de ovos e de fêmeas sedentárias) e produtores de metabólitos tóxicos aos nematóides (Stirling, 1991).

O grupo dos fungos parasitas de ovos e de fêmeas é o que apresenta maior relevância no controle de fitonematóides, com destaque para as espécies *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson e *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams, conhecida anteriormente como *Verticillium chlamydosporium*. Normalmente, esses fungos são saprofíticos, logo, independem da presença de ovos de nematóides no solo para a sua sobrevivência, crescendo satisfatoriamente em matéria orgânica. Em função dessa característica, são mais fáceis de estabelecerem no solo, quando comparados com os fungos predadores. Colonizam

rapidamente ovos e fêmeas de nematóides, destruindo de uma só vez grande quantidade de indivíduos, especialmente no caso do nematóide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) e do nematóide-dos-cistos (*Heterodera* spp., *Globodera* spp) (Stirling, 1991).

Os fungos produtores de metabólitos tóxicos, representados pelos gêneros *Aspergillus*, *Pleurotus*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Myrothecium*, demandam mais estudos sobre o efeito das possíveis substâncias tóxicas produzidas por tais fungos no controle de nematóides. *Trichoderma* spp. é um conhecido agente de controle biológico de fungos fitopatogênicos (Papavizas, 1985; Elad *et al.*, 1993), mas poucas pesquisas foram realizadas sobre a sua ação no manejo de nematóides (Spiegel & Chet, 1998; Sharon *et al.*, 2001). Embora o principal modo de controle de nematóides por *Trichoderma* spp. seja a produção de compostos tóxicos, há relatos de parasitismo de ovos de fitonematóides por esse gênero de fungo (Spiegel & Chet, 1998; Sharon *et al.*, 2001; Eapen *et al.*, 2005).

Dentre os inúmeros trabalhos explorando o controle biológico de nematóides (Stirling, 1991; Ferraz & Santos, 1995; Siddiqui & Mahmood, 1996; Freitas & Carneiro, 2000; Kerry, 2001), a grande maioria é fundamentada no uso de um único antagonista contra o(s) patógeno(s) alvo(s) (Siddiqui & Shaukat, 2002). Todavia, é provável que na maioria dos casos onde o controle biológico ocorra naturalmente, tal evento seja resultado da mistura de antagonistas, muito mais do que a alta população de apenas um deles (Siddiqui & Shaukat, 2002; 2003). Em solos supressivos a doenças de plantas, a presença de mais de um agente de biocontrole é considerada como um dos principais fatores que contribuem para este fenômeno (Lemanceau & Alabouvette, 1991; Stirling, 1991). No entanto, deve-se conhecer previamente se estes organismos podem ser aplicados conjuntamente, pois um fungo poderia inibir o crescimento do outro. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos estudar a compatibilidade entre *P. chlamydosporia* e de *Trichoderma* sp. para possível aplicação conjunta desses organismos e avaliar o potencial de controle de *M. exigua* em condições de casa-de-vegetação.

Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematóides (BIOAGRO-UFV) e em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

O inóculo de *M. exigua* consistiu de ovos obtidos de populações puras e foram coletados de raízes de cafeeiros, mantidos em casa-de-vegetação. Os ovos foram extraídos tal como descrito por Hussey & Barker (1973), modificado por Boneti & Ferraz (1981).

O isolado Pc-10 de *P. chlamydosporia* e o T-1 de *Trichoderma* sp., avaliados neste trabalho, fazem parte da coleção do Laboratório de Controle Biológico de Fitonematóides. O isolado Pc-10 já vem sendo estudado pelos pesquisadores do Laboratório de Controle Biológico de Fitonematóides e tem se mostrado eficiente para o controle de *M. javanica* (Dallemele-Giaretta, 2008). O isolado T-1 foi selecionado por apresentar rápido crescimento e alta produção de conídios e clamidósporos. Os fungos foram mantidos a 4 °C em geladeira, preservados pela técnica de conservação em pedaços de papel filtro, mantidos em tubos contendo sílica-gel (Smith & Onions, 1983).

Compatibilidade entre os isolados fúngicos.

Os isolados de *P. chlamydosporia* e de *Trichoderma* sp. foram submetidos a testes de antagonismo em confrontação direta, antibiose, avaliação do efeito de metabólitos voláteis e da interação de hifas, conforme descrito por Martins-Corder & Melo (1998), modificado pelo uso do meio batata-dextrose-ágar (BDA).

No teste de antagonismo em confrontação direta, um disco de BDA contendo micélio e conídios de *P. chlamydosporia* foi colocado em placa de Petri (9,0 cm de diâmetro), contendo meio BDA, a uma distância de aproximadamente 1,0 cm da borda. As culturas foram incubadas por 10 dias, a 26 °C, na ausência de luz. Em seguida, um disco de micélio de *Trichoderma* sp. foi repicado para placas de Petri, em posição oposta à colônia de *P. chlamydosporia*. Os fungos foram incubados a 26 °C durante 5 dias, em fotoperíodo de 12 horas. Nas avaliações, utilizou-se a escala de notas proposta por Bell *et al.* (1982): 1- colonização completa da placa por *P. chlamydosporia*; 2 – colonização de 2/3 da placa por *P. chlamydosporia*; 3 – colonização de 50 % da placa por cada fungo; 4 – colonização de 2/3 da placa por *Trichoderma* sp.; 5- colonização completa da placa por *Trichoderma* sp.

Para o teste de antibiose, a superfície do meio BDA foi coberta assepticamente com discos de papel celofane (9,0 cm de diâmetro). A seguir, discos de micélio de *Trichoderma* sp. foram colocados no centro sobre a superfície do papel celofane. Os fungos foram incubados

por 48 horas, a 26 °C, sob luz contínua. O diâmetro médio da colônia de *Trichoderma* sp. foi medido e o papel celofane com a colônia foi removido da placa. As placas foram invertidas e foi adicionado 1 mL de clorofórmio na sua parte inferior, a fim de eliminar resíduos estruturais do fungo. Após a evaporação do produto, as placas foram mantidas na posição original e deixadas por 30 minutos sob irradiação direta de luz ultra-violeta, no interior de câmara de fluxo laminar. Em seguida, foi adicionada sobre a superfície do meio de cultura uma suspensão contendo estruturas de *P. chlamydosporia*. A suspensão foi espalhada uniformemente sobre o meio com auxílio da alça de Drigalsky. As placas foram mantidas a 25 °C, na ausência de luz. As suspensões contendo estruturas de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. foram obtidas de colônias cultivadas em BDA, durante 10 dias, a 26 °C, na concentração de 10⁴ e 10⁶ clamidósporos e conídios por mililitro respectivamente. Após cinco dias de incubação, foi avaliado o diâmetro médio da colônia.

Na avaliação do efeito de metabólitos voláteis, tampas de placas de Petri foram posicionadas umas sobre as outras, após ter sido vertido meio BDA em cada uma delas. Na superfície da tampa inferior da placa, foi plaqueado *Trichoderma* sp. e, na superior, *P. chlamydosporia*, ambos na forma de discos de BDA (1 cm de diâmetro), contendo micélio e conídios. As placas foram vedadas lateralmente com membrana plástica e, em seguida, foram mantidas a 26 °C, por 7 dias, sob luz contínua.

No estudo sobre a interação de hifas foi adotada a mesma metodologia descrita no teste de antagonismo em confrontação direta, com a exceção que, neste teste, lamínulas esterilizadas foram primeiramente colocadas entre as duas colônias opostas. Para as observações microscópicas, lâminas foram montadas após a adição de uma gota do corante azul de bromofenol sobre a lamínula, contendo estruturas dos dois fungos.

Em todos os testes de compatibilidade foram adotados os seguintes tratamentos: a) *P. chlamydosporia* versus *P. chlamydosporia*; b) *P. chlamydosporia* versus *Trichoderma* sp.; c) *Trichoderma* sp. versus *P. chlamydosporia*; d) *Trichoderma* sp. versus *Trichoderma* sp. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento.

Efeito de *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. no controle de *Meloidogyne exigua* em pimentão.

Estudou-se a aplicação de substrato colonizado por *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp., isoladamente ou em conjunto, ao solo infestado com *M. exigua*. As testemunhas foram representadas por plantas cultivadas em solos apenas infestados pelo nematóide e pela adição dos substratos não-colonizados.

O inóculo de *Trichoderma* sp. foi produzido em grãos de arroz beneficiado. Em sacos de polipropileno de capacidade de 6 L foram colocados 100 g de arroz e 40 mL de água destilada. Os sacos foram autoclavados por 20 minutos a 120 °C. Cada saco, após atingir a temperatura ambiente, recebeu dois discos de micélio de 9 mm de diâmetro de cultura fúngica em BDA. O fungo foi cultivado no substrato por 15 dias a 25 °C.

O inóculo de *P. chlamydosporia* foi produzido em uma mistura de milho triturado (canjiquinha) e areia autoclavada, na proporção de 1:1 (40 g de cada e 60 mL de água destilada). O substrato foi depositado em sacos de polipropileno de capacidade de 6 L e autoclavado por 20 minutos a 120 °C. Cada saco, após atingir a temperatura ambiente, recebeu dois discos de micélio de 9 mm de diâmetro de cultura fúngica em CMA ('corn-meal-agar') permanecendo por 21 dias no escuro a 25 °C.

O experimento foi conduzido entre 24 de janeiro a 08 de abril de 2008. Durante este período, a temperatura média do ar foi de 26,7 °C, a média das máximas igual a 31,8 °C e a média das mínimas, 21,6 °C.

O solo utilizado para o crescimento das plantas foi composto da mistura de terriço e areia, na proporção 1:1 (massa / massa), tratado com brometo de metila na dosagem de 80 cm³ m⁻³. Dois quilogramas desse solo foram homogeneizados manualmente com 2 g do substrato colonizado ou não pelo respectivo isolado fúngico e, em seguida, acondicionados em vasos de plástico de 2 L de capacidade. Em 2 g de substrato colonizado, o isolado Pc-10 de *P. chlamydosporia* produziu, em média, $1,6 \times 10^7$ clamidósporos, enquanto o isolado T-1 de *Trichoderma* sp. produziu $4,0 \times 10^7$ conídios. Dessa forma, foram incorporados $8,3 \times 10^3$ clamidósporos de *P. chlamydosporia* e/ou $2,0 \times 10^4$ conídios de *Trichoderma* sp. por grama de solo.

O solo de cada vaso foi infestado com 5.000 ovos de *M. exigua*, revolvido e mantido a 60 % da capacidade de campo por 15 dias. Após este período, uma muda de pimentão 'Early California Wonder' foi transplantada para cada vaso. Uma amostra de aproximadamente 2 g de solo foi retirada para a realização de plaqueamento para confirmação da presença dos fungos. No caso de *P. chlamydosporia*, o solo foi diluído serialmente em água esterilizada e 0,5 mL da suspensão de cada diluição foi distribuído sobre meio semi-seletivo (Gaspard *et al.*, 1990). Nas parcelas contendo *Trichoderma* sp., a recuperação foi realizada conforme a metodologia para *P. chlamydosporia*, porém, em meio ágar-água. As placas foram armazenadas a 25 °C e a avaliação da presença de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. foi realizada após 10 e 5 dias, respectivamente.

As plantas foram adubadas e irrigadas sempre que necessário. Sessenta dias após o transplante das mudas, foram avaliadas a massa da parte aérea de cada planta, o número de galhas e de ovos do nematóide por sistema radicular. Após esse período, foi retirada outra amostra do solo, para confirmação da presença dos fungos e de possíveis contaminações.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Cada tratamento foi repetido dez vezes e a unidade experimental foi constituída por um vaso com uma planta de pimentão.

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada com o auxílio do pacote estatístico Statistica 7.0 (Statsoft, 2004) e submetidos à análise de variância, após a verificação dos pressupostos desse procedimento, e ao teste de média de Tukey, quando necessário, ao nível de 5 % de probabilidade, após a transformação ou não em seus respectivos logaritmos.

Resultados e Discussão

No teste de confrontação direta, *Trichoderma* sp. e *P. chlamydosporia* colonizaram 50% da placa, equivalente a nota 3, não havendo crescimento da colônia de um fungo sobre a outra. No teste de antibiose, não houve a produção de antibióticos sobre o meio de cultura por nenhum fungo, o que resultou na ausência de halo de inibição da cultura subsequentemente semeada na mesma placa. *Trichoderma* é um gênero conhecido pela produção de metabólitos tóxicos a outros fungos, característica bastante explorada no controle biológico de fitopatógenos (Howell, 2003). Por essa razão, é de suma importância saber se o isolado em estudo produz compostos que inibirão o outro antagonista, em caso de aplicação conjunta dos agentes de controle biológico.

No teste de metabólitos voláteis, verificou-se que o isolado de *Trichoderma* sp. reduziu significativamente o crescimento de *P. chlamydosporia*, quando comparado com o controle (*P. chlamydosporia* versus *P. chlamydosporia*) (Tabela 1). Por outro lado, o crescimento de *Trichoderma* sp. não foi reduzido por *P. chlamydosporia* (Tabela 2). Os antibióticos voláteis atuam sobre os fungos suscetíveis através da inibição do crescimento micelial (Dennis & Webster, 1971). Possivelmente, a grande quantidade de poros no solo e a presença de outros gases possam minimizar os efeitos de possíveis compostos voláteis produzidos por *Trichoderma* sobre *P. chlamydosporia*.

Tabela 1. Área de crescimento micelial de *Pochonia chlamydosporia* em meio de cultura, afetada pela produção de compostos voláteis pelo *Trichoderma* sp.

<i>P. chlamydosporia</i> na parte superior da placa	
Tratamentos	Área (cm ²) ¹
<i>Trichoderma</i> sp. (parte inferior da placa)	1,50 *
<i>P. chlamydosporia</i> (parte inferior da placa)	3,78
CV (%)	27,44

*Significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade. ¹Para análise, os valores foram transformados para Log₁₀ (x).

Tabela 2. Área de crescimento micelial de *Trichoderma* sp. em meio de cultura, afetada pela produção de compostos voláteis pela *Pochonia chlamydosporia*.

<i>Trichoderma</i> sp. na parte superior da placa	
Tratamentos	Área (cm ²)
<i>P. chlamydosporia</i> (parte inferior da placa)	57,68 ns
<i>Trichoderma</i> sp. (parte inferior da placa)	54,02
CV (%)	18,01

^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade.

No estudo de interação de hifas realizado entre *Trichoderma* sp. e *P. chlamydosporia*, não foi observado nenhuma forma de parasitismo, a exemplo de crescimento paralelo das hifas de ambos os fungos, formação de estruturas semelhantes a ganchos, que crescem em direção aos feixes de hifas do hospedeiro, enrolamento de hifas do antagonista sobre o patógeno e intensa fragmentação de hifas do hospedeiro.

No bioensaio em casa de vegetação, a aplicação em conjunto ou separadamente dos antagonistas não alterou significativamente ($P < 0,05$) a massa das partes aéreas das plantas de pimentão, tampouco reduziu a população de *M. exigua* (Tabela 3).

Embora seja relatada a eficiência de *P. chlamydosporia* no controle de *M. exigua* no cafeeiro (Campos, 1994) e de *Trichoderma* spp. sobre outras espécies de *Meloidogyne* em condições de casa-de-vegetação (Windham *et al.*, 1989; Spiegel & Chet, 1998; Sharon *et al.*, 2001), os resultados são inconsistentes, como os obtidos neste estudo.

De Leij & Kerry (1991) relatam que para o controle efetivo de nematóides é essencial que haja colonização da rizosfera pela *P. chlamydosporia*. Plantas de pimentão são consideradas hospedeira mediana, 100 a 200 UFC cm⁻² de raiz após 7 semanas, com base na habilidade de suportar o crescimento de *P. chlamydosporia* em sua rizosfera (Kerry, 2001). No entanto, é fundamental que as massas de ovos do nematóide na raiz estejam expostas ao ataque do fungo para resultar em um alto controle (De Leij *et al.*, 1992), o que não acontece com *M. exigua*, que produz a maioria de suas massas de ovos no interior das raízes dos hospedeiros, a exemplo de plantas de pimentão e cafeeiro (Mendes, 1975).

Tabela 3. Efeito da aplicação de *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. sobre a massa da parte aérea, o número de galhas e de ovos de *Meloidogyne exigua* por sistema radicular de pimentão, aos 60 dias após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Massa da parte aérea (g)	Número de galhas *	Número de ovos *
<i>P. chlamydosporia</i>	70,2 ns	210,7 ns	4161,1 ns
<i>Trichoderma</i> sp.	61,7	224,3	5009,0
<i>P. chlamydosporia</i> + <i>Trichoderma</i> sp.	83,3	226,7	5833,3
Arroz	71,7	227,5	4666,7
Canjiquinha	71,8	203,8	4818,3
Arroz + Canjiquinha	77,1	236,3	5343,3
Testemunha (só nematóide)	87,6	239,9	6588,7
CV (%)	28,67	8,40	5,94

*Para análise, os valores foram transformados para $\text{Log}_{10}(x)$. ^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade.

Os mecanismos de ação de *Trichoderma* spp. sobre os fitonematóides ainda são pouco conhecidos. Possivelmente, a atividade antagonista do fungo ao nematóide ocorra no solo e não nas raízes, pela produção de metabólitos com atividade proteolítica que atuam sobre os componentes protéicos da cutícula do juvenil de segundo estágio (J₂) (Sharon *et al.*, 2001). Embora o fungo fosse aplicado junto com o nematóide, é possível que o período de contato entre o antagonista e o patógeno no solo antes do transplântio das mudas fosse insuficiente para que ocorresse o efeito dos metabólitos de *Trichoderma* spp. sobre os J₂. Spiegel & Chet (1998) relataram que a concentração desses metabólitos no solo é baixa e o período de tempo de exposição dos J₂ a esses metabólitos precisa ser aumentado para que ocorra acúmulo dessas substâncias e resulte na redução significativa do nematóide.

Espécies de *Trichoderma* produzem enzimas líticas que degradam a parede dos ovos e aumentam a permeabilidade das massas de ovos, permitindo a penetração do micélio e a total desintegração do conteúdo do ovo. Entretanto, o parasitismo desse fungo só é efetivo para os ovos imaturos (Eapen *et al.*, 2005). Tal qual observado para *P. chlamydosporia*, a característica de *M. exigua* possuir as massas de ovos internas e os ovos mais jovens ficarem protegidos no interior da massa de ovos pelos ovos mais maduros (Mendes, 1975) dificultaria a colonização dos ovos por *Trichoderma* sp.

No dia da implantação do experimento, foram incorporados $8,3 \times 10^3$ clamidósporos de *P. chlamydosporia* ou $2,0 \times 10^4$ conídios de *Trichoderma* sp. por grama de solo. Não houve alteração significativa ($P < 0,05$) no número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *P. chlamydosporia* 15 dias após a sua aplicação ao solo, isoladamente ou em conjunto com *Trichoderma* sp. (Tabela 4). No entanto, aos 60 dias, o número de UFC's de *P. chlamydosporia* foi menor, principalmente quando o fungo foi aplicado simultaneamente com *Trichoderma* sp. (Tabela 4). Por outro lado, o inóculo de *Trichoderma* sp. não sofreu alteração quantitativa aos 15 dias, e, aos 60 dias, o número de UFC's do fungo foi maior ($P < 0,05$), mesmo na presença de *P. chlamydosporia* (Tabela 5).

Tabela 4. Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Pochonia chlamydosporia* por grama de solo, em amostras contendo inóculo do fungo isoladamente ou em conjunto com *Trichoderma* sp., avaliados na época do transplântio das mudas de pimentão e aos 60 dias, na colheita do experimento.

Tratamentos	UFC's <i>P. chlamydosporia</i>		CV (%)
	Transplântio ^{1,*}	Colheita ^{1,*}	
<i>P. chlamydosporia</i> ^{2,*}	3,9x10 ⁶ A a	2,9x10 ⁵ A b	5,95
<i>P. chlamydosporia</i> e <i>Trichoderma</i> sp. ^{2,*}	2,2x10 ⁶ A a	4,7x10 ⁴ B b	4,43
CV (%)	5,88	4,15	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5 % de probabilidade. *Para análise, os valores foram transformados para $\text{Log}_{10}(x)$.

Tabela 5. Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Trichoderma* sp. por grama de solo, em amostras contendo inóculo do fungo isoladamente ou em conjunto com *Pochonia chlamydosporia*, avaliados na época do transplantio das mudas de pimentão e aos 60 dias, na colheita do experimento.

Tratamentos	UFC's <i>Trichoderma</i> sp.		
	Transplântio ^{1,*}	Colheita ^{1,*}	CV (%)
<i>Trichoderma</i> sp. ^{2,*}	4,6x10 ⁷ A b	5,9x10 ⁸ A a	3,17
<i>P. chlamydosporia</i> e <i>Trichoderma</i> sp. ^{2,*}	6,3x10 ⁷ A b	8,3x10 ⁸ A a	3,25
CV (%)	3,20	3,20	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5 % de probabilidade. *Para análise, os valores foram transformados para Log₁₀ (x).

A presença da matéria orgânica aumenta consideravelmente o estabelecimento de fungos parasitas de ovos e fêmeas no solo (Cannayane & Rajendran, 2001). O desenvolvimento de *P. chlamydosporia*, considerada saprófita, pode ter sido afetado pela ausência de matéria orgânica no solo, com exceção do próprio substrato de crescimento do fungo. Além disso, *Trichoderma* spp. possui crescimento agressivo no solo (Howell, 2003) podendo ter influenciado no estabelecimento de *P. chlamydosporia*, que apresenta crescimento mais lento (Stirling, 1991).

A aplicação isolada ou conjunta de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. não favoreceu o controle de *M. exigua*. Considerando que a aplicação de antagonista e de matéria orgânica possa favorecer o estabelecimento dos fungos no solo e auxiliar no controle de nematóides (Cannayane & Rajendran, 2001; Lopes, 2007), novos estudos devem abordar o seu uso integrado. Além disso, o modo de ação desses fungos sobre *M. exigua* deve ser mais bem entendido, para que condições mais favoráveis beneficiem a atuação dos antagonistas.

Referências Bibliográficas

- BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., VIANA, A.P. & SILVA, C.P. 2004. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira*, 28:49-54.
- BELL, D.K.; WELLS, H.D.; MARKHABELL, D.K.; WELLS, C.R. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72:379-382.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6(Suplemento):553-553. (Resumo).
- CAMPOS, V.P., LIMA, R.D. & ALMEIDA, V.F. 1985. Nematóides parasitas do cafeeiro. *Informe Agropecuário*, 11:50-58.
- CAMPOS, H.D. 1994. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 em feijoeiro e *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com fungos predadores e parasitas de ovos de fitonematóides. Escola Superior de Agricultura de Lavras, Tese de Mestrado em Fitopatologia, Lavras, 67p.
- CANNAYANE, I. & RAJENDRAN, G.SO. 2001. Application of biocontrol agents and oil cakes for the managment for *Meloidogyne incognita* in brinjal (*Solanum melongena* L.). *Current Nematology*, 12:51-55.
- CARNEIRO, R.M.D.G. & ALMEIDA, M.R.A. 2000. Caracterização isoenzimática e variabilidade intraespecífica dos nematóides de galhas do cafeeiro no Brasil. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Anais, Poços de Caldas, MG. pp. 280-282.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R. 2008. Isolamento, identificação e avaliação de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de tomateiro. Universidade Federal de Viçosa, Tese de Doutorado em Fitopatologia, Viçosa, 83p.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. II – Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57:41-48.
- DE LEIJ, F.A.A.M. & KERRY, B.R. 1991. The nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium*, as a potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. *Revue de Nematologie*, 14:157-164.
- DE LEIJ, F.A.A.M.; KERRY, B.R. & DENNEHY, J.A. 1992. The effect of fungal application rate and nematode density on the effectiveness of *Verticillium*

- chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita*. *Nematologica*, 38:112-122.
- EAPEN, S.J.; BEENA, B & RAMANA, K.V. 2005. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88:218-225.
- ELAD, Y.; ZIMMAND, G.; ZAQS, Y.; ZURIEL, S. & CHET, I. 1993. Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. *Plant Pathology*, 42:324-332.
- FERRAZ, S.; DIAS, C.R. & FREITAS, L.G. 2001. Controle de nematóides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. (ed). Manejo Integrado-Fitossanidade: Cultivo protegido, pivô central e plantio direto. Editora UFV, Viçosa, pp. 1-52.
- FERRAZ, S. & SANTOS, M.A. 1995. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. *Revisão Anual de Proteção de Plantas*, 3:283-314.
- FREITAS, L.G. & CARNEIRO, R.M.D.G. 2000. Controle biológico de fitonematóides por *Pasteuria* spp. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed). Controle Biológico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 388 p.
- FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. 1999. Introdução à nematologia. Editora UFV, Viçosa, 84p. (Cadernos Didáticos, 58).
- GASPARD, J.T.; JAFFEE, B.A. & FERRIS, H. 1990. Association of *Verticillium chlamydosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. *Journal of Nematology*, 22:07-213.
- GONÇALVES, W. & PEREIRA, A.A. 1998. Resistência de cafeeiro a nematóides IV Reação do cafeeiro derivados do híbrido de Timor a *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira*, 22:39-49.
- GONÇALVES, W. & SILVAROLLA, M.B. 2001. Nematóides parasitos do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) Tecnologias de produção de café com qualidade. Viçosa, Editora UFV, pp.199-267.
- HALBRENDT, J.M. & LAMONDIA, J.A. 2005. Crop rotation and other cultural practices. In: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y & DICKSON, D.W. (Eds.). *Nematology: advances and perspectives*. CABI publishing, Wallingford, pp. 909-930.
- HOWELL, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87:4-10.

- KERRY, B.R. 2001. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: BUTT, T.M.; JACKSON, C. & MAGAN, N. (Ed). Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential. Wallingford: CAB International, 380p.
- LEMANCEAU, P. & ALABOUVETTE, C. 1991. Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protection*, 10:279-286.
- LOPES, E.A. 2007. Formulação de condicionadores de solo com propriedades nematicidas. Universidade Federal de Viçosa, Tese de Doutorado em Fitopatologia, Viçosa, 67p.
- LORDELLO, L.G.E. 1982. Nematóides das plantas cultivadas. 7 ed. Nobel, São Paulo, 314 p.
- MARTINS-CORDER, M.P.; MELO, I.S. 1998. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. *Scientia Agricola* 55:01-07.
- MENDES, B.V. 1975. Histopatologia de raízes de cafeeiro parasitadas por *Meloidogyne exigua*. Universidade Federal de Viçosa, Tese de Mestrado em Fitopatologia, Viçosa, 54p.
- OLIVEIRA, D.S., LIMA, R.D., ROESE, A.D & SILVA, R.V. 2001. Caracterização morfológica e bioquímica de populações de *Meloidogyne* spp. em cafeeiros na Zona da Mata de Minas Gerais. In: II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Anais, Vitória, ES, pp. 1072-1077.
- PAPAVIZAS, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 23:23-54.
- SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I. HERRERA-ESTRELLA, AA.; KLEIFELD, O. & SPIEGEL, Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 91:687-693.
- SIDDIQUI, Z.A. & MAHMOOD, I. 1996. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. *Bioresource Technology*, 58:229-239.
- SIDDIQUI, I.A. & SHAUKAT, S.S. 2002. Mixtures of plant disease suppressive bacteria enhance biological control of multiple tomato pathogens. *Biol. Fertil. Soils*, 36:260-268.
- SIDDIQUI, I.A. & SHAUKAT, S.S. 2003. Combination of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pochonia chlamydosporia* for control of root-knot infecting fungi in tomato. *Journal of Phytopathology*, 151:215-222.
- SMITH, D. & ONIONS, A.H.S. 1983. The preservation and maintenance of living fungi in soil. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 51 p.

- SPIEGEL, Y. & CHET, I. 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. *Integrated Pest Management Reviews*, 3:169-175.
- STATSOFT, Inc. 2004. *Statistica for Windows* (computer program manual). Tulsa, OK: Statsoft Inc. (<http://www.statsoft.com>).
- STIRLING, G.R. 1991. *Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and perspectives*. Wallingford: CAB International, 282p.
- WINDHAM, G.L.; WINDHAM, M.T. & WILLIAMS, W.P. 1989. Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. *Plant Disease*, 73:493-495.

Capítulo - 2

Formulação de um condicionador de solo com propriedades nematocidas para o plantio de cafeeiros.*

PAULO AFONSO FERREIRA^{1,2}, SILAMAR FERRAZ², EVERALDO ANTÔNIO LOPES²,
LEANDRO GRASSI DE FREITAS² & RONALDO JOÃO FALCÃO ZOOCA²

*Parte da dissertação do primeiro autor para obtenção do grau de Mestre pela Universidade Federal de Viçosa (MG) Brasil.

¹Bolsista do CNPq

²Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 36571-000, Viçosa (MG) Brasil.

Autor para correspondência: pafonsoferreira@uol.com.br

Recebido para publicação em xx/xx/2008. Aceito em xx/xx/2008

Resumo – Ferreira, P.A.; Ferraz, S.; Lopes, E.A.; Freitas, L.G. & Zooca, R.J.F. 2008. Formulação de um condicionador de solo com propriedades nematocidas para o plantio de cafeeiros.

Um condicionador de solo formulado com micronutrientes e matéria orgânica foi testado em casa-de-vegetação, visando ao controle de *Meloidogyne exigua* em cafeeiros cultivados em dois solos, um arenoso e um argiloso. Os componentes do condicionador foram torta de mamona, palha de café, fosfato reativo, sulfato de potássio, ácido bórico, sulfato de zinco, sulfato de cobre, sulfato manganoso, substrato colonizado por *Pochonia chlamydosporia* e substrato colonizado por *Trichoderma* sp. Os ingredientes foram misturados com o auxílio de uma betoneira. O condicionador de solo (582,75 g/vaso), a adubação convencional e o inóculo do nematóide (5.000 ovos) foram adicionados a cada solo (arenoso e argiloso), em experimentos independentes, em vasos de 15 L e uma muda de cafeeiro foi transplantada para cada vaso após 15 dias. A testemunha foi representada por plantas cultivadas em solos infestados ou não pelo nematóide. A massa da matéria seca da parte aérea e a massa da matéria fresca das raízes, a altura das plantas, o número de folhas, o

diâmetro de copa, as características químicas do solo e da parte aérea, além do número de galhas e de ovos por sistema radicular e o número de juvenil de segundo estágio por 100 cm³ de solo de *M. exigua* foram avaliados após 6 meses. A aplicação do condicionador em solo argiloso promoveu um melhor crescimento das mudas de cafeeiros, aumentando o número de folhas, diâmetro de copa, altura e massa da matéria seca da parte aérea. No entanto, não teve influência no desenvolvimento das mudas de cafeeiro cultivadas em solo arenoso. Tanto no solo argiloso quanto no solo arenoso, o condicionador reduziu a população de *M. exigua*. A sua aplicação teve tendência de melhorar as características químicas do solo argiloso e arenoso, melhorando os teores dos nutrientes na parte aérea das plantas de cafeeiro cultivadas nesses solos. Foi estudado o efeito do tempo de armazenamento do condicionador de solo em embalagens de polietileno transparente e escuro, papel e aniagem, visando manter viáveis os isolados de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. O armazenamento do condicionador de solo em sacos de polietileno transparente e escuro manteve a população de *Trichoderma* sp. viável por 90 dias em níveis maiores do que quando foi formulado. No entanto, a população de *P. chlamydosporia* caiu drasticamente, em todas as embalagens, até o 15º dia, permanecendo viável em níveis baixo.

Summary – Ferreira, P.A.; Ferraz, S.; Lopes, E.A.; Freitas, L.G. & Zooca, R.J.F. 2008. Formulation of soil conditioner with nematicide properties for coffee trees planting.

A soil conditioner formulated with micronutrients and organic matter was tested in a greenhouse aiming to the control of *Meloidogyne exigua* in coffee trees growing in two soils, a sandy soil and a clay soil. The components of the conditioner were castor cake, coffee straw, reactive phosphate, potassium sulphate, boric acid, zinc sulphate, copper sulphate, manganous sulphate, substrate colonized by *Pochonia chlamydosporia* and substrate colonized by *Trichoderma* sp. The ingredients were mixed with the help of a concrete mixer. The soil conditioner (582.75 g/vase), the conventional fertilizing and the nematode inoculum (5,000 eggs) were added to each soil (sandy and clay soil), in independent experiments, in 15 L vases and a coffee seedling was transplanted for each vase after 15 days. The witness was represented by plants growing in soils infested or not by nematodes. The aerial section dry mass weight and the root fresh matter mass, the height of the plants, the number of leaves, the canopy diameter, the chemical soil characteristics and from the aerial section, besides the number of galls and the number of eggs per root system and the number of juvenile in the second stage per 100 cm³ of soil of *M. exigua* were evaluated after 6 months. The conditioner application in clay soil promoted a better growth of the coffee seedlings, increasing the number of leaves, the canopy diameter, height and aerial section dry matter mass. However, it didn't influence the development of coffee seedlings cultivated in sandy soil. The conditioner reduced *M. exigua* population in the clay soil as well as in the sandy soil. Its application tented to improve the chemical characteristics of the clay and sandy soils, improving the nutrient levels in the aerial section of coffee plants cultivated in these soils. It was studied the effect of storage time of soil conditioner in dark and transparent polyethylene sacs, paper and sackcloths, aiming to maintain feasible the *P. chlamydosporia* and *Trichoderma* sp. isolates. The storage of soil conditioner in transparent and dark polyethylene sacs kept the population of *Trichoderma* sp. Feasible for 90 days in higher levels than those when it was formulated. However, the population of *P. chlamydosporia* fell drastically in all sacs until the day 15, remaining feasible in low levels.

Introdução

O cafeeiro é de grande relevância econômica para vários países tropicais. Constitui um dos principais produtos agrícolas no mercado internacional e é cultivado em mais de 70 países (FAO, 2007).

O Brasil é o maior produtor mundial de café, com produção estimada para a safra de 2007/2008 de 32,6 milhões de sacas de café beneficiado. Desse total, 69 % são de café arábica (*Coffea arabica* L.), com a área cultivada de 2,2 milhões de hectares. Dessa área, aproximadamente 91 % estão em produção e 9 % estão sendo implantadas. Minas Gerais destaca-se como o maior produtor nacional de café, com 45,3 % da produção brasileira. No entanto, a produtividade média brasileira é de 18,6 sacos por hectare, considerados muito baixos. Entre os fatores que influenciam as perdas de produtividade da cultura, os fitossanitários são de grande importância (Conab, 2007; FAO, 2007).

Entre os agentes fitossanitários, os fitonematóides são responsáveis por grandes perdas na agricultura em todo o mundo, podendo até mesmo inviabilizar o cultivo em determinadas áreas. Os nematóides causadores de galhas radiculares, *Meloidogyne* spp., estão entre os principais patógenos agrícolas, em função de sua ampla distribuição, vasta gama de hospedeiros e elevados prejuízos provocados (Lordello, 1982).

Diferentes espécies de nematóides do gênero *Meloidogyne* parasitam o cafeeiro no Brasil, a exemplo de *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. exigua* Goeldi, *M. javanica* (Treub.) Chitwood, *M. hapla* Chitwood, *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. paranaensis* Carneiro et al. e *M. coffeicola* Lordello & Zamith (Campos, 1997). *M. exigua*, embora não seja a espécie mais patogênica, é uma das que causam mais prejuízos à cafeicultura brasileira, em razão de ser a mais disseminada nas principais regiões cafeicultoras (Mendes, 1975; Barbosa et al. 2004). Lordello (1982) relata que no final do século XIX, *M. exigua* destruiu extensas áreas cultivadas no estado do Rio de Janeiro, forçando a substituição da cultura por outras. Nos dias atuais, nota-se a importância desse nematóide em cafeeiros arábica recém-plantados e, mesmo não sendo a espécie mais agressiva, pode causar perdas da ordem de 45% (Barbosa et al., 2004).

Além dos danos causados por *M. exigua*, a importância do patógeno é justificada pela dificuldade e os altos custos envolvidos no seu controle. O princípio da exclusão é o mais importante quando se pensa no manejo de qualquer nematóide, ou seja, o agricultor deve evitar o estabelecimento desse organismo em local onde ele não ocorra. A partir do momento que a área foi infestada, a sua erradicação torna-se praticamente impossível e as medidas de

controle que serão adotadas visarão apenas à redução na população dos nematóides no solo (Ferraz *et al.*, 2001). No entanto, medidas de controle, como o uso de variedades resistentes, controle químico e rotação de culturas, apresentam limitações (Jatala, 1986; Stirling, 1991; Freitas *et al.*, 1999; Ferraz *et al.*, 2001; Kerry, 2001; Halbrendt & LaMondia, 2005).

Vislumbrando novas táticas de controle dos nematóides, em função da crescente pressão pública por uma agricultura que cause menos impacto ambiental, métodos alternativos são estudados, como o controle biológico e a incorporação de matéria orgânica ao solo.

O grupo dos fungos parasitas de ovos e de fêmeas é o que apresenta maior relevância no controle biológico de fitonematóides, com destaque para a espécie *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams, por causa das características intrínsecas em seu parasitismo e colonização do ambiente. Normalmente, esses fungos são saprofitos, logo, independem da presença de ovos de nematóides no solo para a sua sobrevivência, crescendo satisfatoriamente em matéria orgânica. Em função dessa característica, são mais fáceis de estabelecerem no solo, colonizar rapidamente ovos e fêmeas de nematóides, destruindo de uma só vez grande quantidade de indivíduos (Stirling, 1991).

Outro grupo de fungos nematófagos que merece mais estudo são os produtores de metabólitos tóxicos, representado pelo gênero *Trichoderma*, por ser um bom agente de controle biológico de fungos fitopatogênicos (Papavizas, 1985; Elad *et al.*, 1993) e possuir mecanismos diferentes de ação que os parasitas de ovos e fêmeas, complementando o manejo dos fitonematóides (Spiegel & Chet, 1998; Sharon *et al.*, 2001; Eapen *et al.*, 2005).

A incorporação de matéria orgânica ao solo visando ao incremento na produção é realizada desde os primórdios da agricultura. Os efeitos benéficos mais conhecidos dessa prática são o aumento na disponibilidade de nutrientes e a melhoria da qualidade física do solo (Rodríguez-Kábana *et al.*, 1986). Em algumas ocasiões, também é observada a supressão de fitopatógenos, como por exemplo, os nematóides (Stirling, 1991). Em certos casos, a decomposição destes resíduos resulta na liberação de produtos tóxicos aos nematóides (Stirling, 1991; Gonzaga & Ferraz, 1994).

Quando os fungos nematófagos são aplicados conjuntamente a uma fonte de matéria orgânica, a possibilidade de estabelecimento destes organismos aumenta consideravelmente. Além disso, pode potencializar o controle de nematóides pela liberação de compostos nematicidas e pela melhoria da nutrição da planta hospedeira, devido a liberação de nutrientes (Cannayane & Rajendran, 2001).

Condicionador de solo é um produto que promove a melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (Brasil, 2006). Eles podem variar de acordo com a sua origem e composição, podendo ser compostos por materiais orgânicos, polímeros sintéticos e condicionadores minerais (Hickman & Whitney, 2008). Uma abordagem que merece ser investigada é a possibilidade de formular condicionadores que possam ser aplicados na cova de plantio de culturas perenes, como o cafeeiro. Tais produtos, além de conterem todos os nutrientes necessários para a implantação da cultura, seriam enriquecidos com materiais orgânicos, a exemplo de cascas de café e torta de mamona, além de agentes de controle biológico, como *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp., possibilitando o cultivo das plantas de café tanto no sistema convencional como no sistema orgânico e o controle de nematóides, principalmente *M. exigua*.

Dessa forma, formulou-se a hipótese que o uso do condicionador de solo no plantio do cafeeiro seja capaz de favorecer o crescimento da planta e apresentar ação supressora sobre a população de *M. exigua*. Diante desta perspectiva, o presente trabalho teve como objetivos: a) Verificar o efeito de condicionador formulado, visando a sua utilização no plantio de cafeeiros em solos infestados com *M. exigua*, em testes em casa-de-vegetação; b) Avaliar a viabilidade do armazenamento do condicionador acondicionado em diferentes embalagens.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematóides (BIOAGRO-UFV) e em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

O inóculo de *M. exigua* consistiu de ovos obtidos de populações puras e coletados de raízes de cafeeiros mantidos em casa-de-vegetação. Os ovos foram extraídos como descrito por Boneti & Ferraz (1981).

Os isolados Pc-10 de *P. chlamydosporia* e T-1 de *Trichoderma* sp., adicionados ao condicionador, fazem parte da coleção do Laboratório de Controle Biológico de Fitonematóides/BIOAGRO. Os fungos foram mantidos a 4 °C em geladeira, preservados por meio da técnica de conservação em pedaços de papel-filtro e mantidos em tubos contendo sílica-gel (Smith & Onions, 1983).

O preparo das cascas de café e da torta de mamona foi baseado na metodologia descrita por Lopes *et al.* (2005). As cascas de café foram obtidas diretamente de produtores da região de Viçosa e a torta de mamona foi adquirida no comércio. Os diferentes materiais foram deixados para secar ao ambiente, até peso constante. A seguir, foram picados, com o auxílio de um moinho de facas rotativas com peneira de 1 mm de abertura, e utilizados nos experimentos.

Formulação de um condicionador de solo com propriedades nematicidas para o plantio de cafeeiros.

Foi estudado o efeito da aplicação do condicionador, comparando-se à adubação convencional para plantio de cafeeiros em solo argiloso natural e em uma mistura do solo argiloso e areia lavada, na proporção 1:2 (volume / volume), simulando um solo arenoso, sobre a população de *M. exigua*, em experimentos independentes. As principais características físicas e químicas destes solos são apresentadas na Tabela 1 e na Tabela 2, respectivamente. As testemunhas foram representadas por plantas cultivadas em solos apenas infestados ou não pelo nematóide e pela adição do condicionador ou da adubação convencional em solos não infestados.

Tabela 1. Análise física e classificação textural dos solos usado para avaliar o efeito do condicionador de solo.

Identificação	Argila	Silte	Areia Grossa	Areia Fina	Classificação Textural
	%				
Solo argiloso	66	4	14	16	Muito Argilosa
Solo arenoso	10	3	80	7	Areia Franca

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.
O método utilizado foi o da “Pipeta” segundo EMBRAPA.

Tabela 2. Resultado analítico do solo arenoso e do solo argiloso usados para avaliar o efeito do condicionador de solo.

Referência	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	CTC (t)	CTC (T)
	(H ₂ O)	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³					
Solo argiloso	4,9	1	18	0,3	0,0	0,6	5,12	0,35	0,95	5,47
Solo arenoso	5,4	2	18	0,3	0,1	0,2	2,15	0,45	0,65	2,60

Referência	V	m	MO	P-rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B
	%		dag kg ⁻¹	mg L ⁻¹	mg dm ⁻³				
Solo argiloso	6	63	1,4	3,7	0	90	1	1	0
Solo arenoso	17	31	0,8	22,1	3	141	34	1	0

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.

pH em água, KCl e CaCl₂ – Relação 1:2,5

P – Na – K – Fe – Zn – Mn – Cu – Extrator Mehlich 1

Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol/L – pH 7,0

H + Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L – pH 7,0

B – Extrator água quente

S – Extrator – Fosfato monocálcico em ácido acético

SB = Soma de Bases Trocáveis

CTC (t) – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva

CTC (T) – Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0

V = Índice de Saturação por Bases

m = Índice de Saturação por Alumínio

ISNa – Índice de Saturação por Sódio

Mat. Org. (MO) = C.Org x 1,724 – Walkley-Black

P-rem = Fósforo Remanescente

O condicionador foi formulado baseando-se em pesquisas anteriores (Kiehl, 1985; Tronconi, 1985; Campos, 1994; Guimarães *et al.*, 1999; Lopes *et al.*, 2007a). Foi realizada a combinação de torta de mamona, palha de café e de alguns adubos químicos permitidos na agricultura orgânica com os dois isolados de fungos nematófagos (*P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp.), com o objetivo de formular um condicionador de solo que poderá ser utilizado na implantação da lavoura cafeeira, em sistemas de agricultura convencional ou orgânica.

Para a produção de 1 kg de condicionador, foram misturados: a) 171,6 g de casca de café do tipo coco (Tabela 3); b) 429 g de torta de mamona (Tabela 3); c) 257,4 g de fosfato

natural reativo (Djebel Onk - Argélia) (Tabela 3); d) 25,7 g de sulfato de potássio; e) 3,0 g de ácido bórico; f) 4,3 g de sulfato de zinco; g) 1,7 g de sulfato de cobre; h) 4,3 g de sulfato manganoso; i) 51,5 g de substrato colonizado por *P. chlamydosporia*; e, j) 51,5 g de substrato colonizado por *Trichoderma* sp.

Tabela 3. Análise química da torta de mamona, palha de café e do fosfato natural reativo utilizados na formulação do condicionador de solo.

Identificação	N	P	K	Ca	Mg	S	C.O	C/N
	dag kg ⁻¹							
Torta de Mamona	3,42	0,63	0,97	3,96	2,38	0,28	9,40	2,70
Palha de Café	0,95	0,08	1,80	0,49	0,14	0,05	23,30	24,50
Fosfato Natural Reativo	0,28	10,62	0,30	39,35	0,75	1,26	0,31	1,11

Identificação	Zn	Fe	Mn	Cu	B	pH (H ₂ O)
	mg kg ⁻¹					
Torta de Mamona	84	3726	355	18	28	6,29
Palha de Café	7	328	27	14	25	6,28
Fosfato Natural Reativo	255	356	20	56	30	6,48

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.

P, K, Ca, Mg, S, Zn, Fe, Mn, Cu – determinados no extrator ácido (ácido nítrico com ácido perclórico); N – Método do Kjeldahl; CO – Método Walkley – Black; B – mufla.

Os ingredientes foram misturados com auxílio de uma betoneira por tempo suficiente para homogeneização. As características químicas do condicionador estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Análise química do condicionador de solo.

N	P	K	Ca	Mg	S	C.O	C/N	Zn	Fe	Mn	Cu	B	pH (H ₂ O)
dag kg ⁻¹								mg kg ⁻¹					
2,66	3,07	2,20	8,10	1,66	0,99	7,95	2,99	2081	8710	600	770	282	6,44

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.

P, K, Ca, Mg, S, Zn, Fe, Mn, Cu – determinados no extrator ácido (ácido nítrico com ácido perclórico); N – Método do Kjeldahl; CO – Método Walkley – Black; B – mufla.

O inóculo de *Trichoderma* sp. foi produzido em grãos de arroz beneficiado. Em sacos de polipropileno de capacidade de 6 L foram colocados 100 g de arroz e 40 mL de água destilada. Os sacos foram autoclavados por 20 minutos a 120 °C. Cada saco, após atingir a

temperatura ambiente, recebeu dois discos de micélio de 9 mm de diâmetro de cultura fúngica crescido em BDA. O fungo foi cultivado no substrato por 15 dias a 25°C. Ao final do período, foram produzidos 2×10^6 conídios de *Trichoderma* sp. por grama do substrato. No condicionador de solo, foram adicionados $1,03 \times 10^8$ conídios de *Trichoderma* sp., resultando em uma população final de $1,03 \times 10^5$ conídios por grama de condicionador.

O inóculo de *P. chlamydosporia* foi produzido em uma mistura de milho triturado (canjiquinha) e areia autoclavada, na proporção de 1:1 (40 g de cada e 60 mL de água destilada). O substrato para crescimento do fungo foi depositado em sacos de polipropileno de capacidade de 6 L e autoclavado por 20 minutos a 120 °C. Cada saco, após atingir a temperatura ambiente, recebeu dois discos de micélio de 9 mm de diâmetro de cultura fúngica crescido em CMA ('corn-meal-agar') permanecendo por 21 dias no escuro a 25 °C. Após esse período, foram produzidos $6,0 \times 10^4$ clamidósporos de *P. chlamydosporia* por grama do substrato. Foram adicionados $3,09 \times 10^6$ clamidósporos no condicionador de solo, resultando em uma população final de $3,09 \times 10^3$ clamidósporos de *P. chlamydosporia* por grama de condicionador.

A adubação convencional e a correção de acidez foram realizadas com base nas características químicas dos solos e de acordo com as exigências da cultura (Guimarães *et al.*, 1999). Assim sendo, foram incorporados 222,2 g de superfosfato-simples, 1,76 g de ácido bórico e 2,5 g de sulfato de zinco em cada vaso. Foram aplicados 26,8 g e 10,2 g de calcário dolomítico (PRNT 82,70 %) em cada vaso com solo argiloso e arenoso, respectivamente. Nos tratamentos em que foi aplicada a adubação convencional, foi realizada a adubação de cobertura, após 30 dias de transplante, com nitrogênio e potássio sendo a dose dividida em duas aplicações, em intervalo de 30 dias. Utilizou-se 5 g de sulfato de amônio e 12,5 g de cloreto de potássio por aplicação em cada vaso.

O experimento foi conduzido entre 15 de abril e 28 de outubro de 2007. Durante esse período, a temperatura média do ar foi de 24,5 °C, a média das máximas igual a 32,9 °C e a média das mínimas, 16,2 °C.

Quinze quilogramas de solo arenoso ou argiloso foram homogeneizados em uma betoneira com 582,75 g do condicionador ou com os fertilizantes utilizados em adubação convencional e, em seguida, acondicionados em vasos de plástico de 15 L de capacidade.

O solo de cada vaso foi infestado com 5.000 ovos de *M. exigua*, revolvido e mantido a 60 % da capacidade de campo por 15 dias. Após este período, uma muda de cafeeiro da variedade 'Catuaí Vermelho IAC 44' com cinco pares de folhas foi transplantada para cada vaso.

As plantas foram irrigadas sempre que necessário. Seis meses após o transplântio das mudas, foram avaliadas a massa da matéria fresca das raízes e a massa da matéria seca da parte aérea de cada planta, a altura e o número de folhas das plantas, o diâmetro da copa, o número de galhas e de ovos do nematóide por sistema radicular e de juvenis de segundo estágio (J₂) por 100 cm³ de solo. Além disso, foram realizadas as análises químicas do solo e do conteúdo de nutrientes da parte aérea do cafeeiro.

Após esse período, foi retirada uma amostra do solo, para confirmação da presença dos fungos e de possíveis contaminações. No caso de *P. chlamydosporia*, o solo foi diluído serialmente em água esterilizada e 0,5 mL da suspensão de cada diluição foi distribuído sobre meio semi-seletivo (Gaspard *et al.*, 1990). Nas parcelas contendo *Trichoderma* sp., a recuperação foi realizada conforme a metodologia citada para o isolamento de *P. chlamydosporia*, porém, com uso de ágar-água (2 %). As placas foram armazenadas a 25 °C e a avaliação da presença de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. foi realizada após 10 e 5 dias, respectivamente.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 2 (tipo de fertilizante x presença ou ausência do nematóide). Cada tratamento foi repetido seis vezes e a unidade experimental foi constituída por um vaso com uma planta de cafeeiro.

Viabilidade do armazenamento do condicionador de solo.

O condicionador foi armazenado nas embalagens (polietileno transparente, polietileno escuro, papel e aniagem) no período de 1° de março a 30 de maio de 2008, sobre uma bancada no laboratório de controle biológico de nematóides (BIONEMA) em temperatura ambiente (temperatura média de 20,5 °C) e a cada 15 dias, durante 90 dias, foram retiradas amostras de cada repetição para formar uma amostra composta por tratamento. Essa amostra composta foi plaqueada, conforme metodologia descrita para avaliação de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp.

O ensaio constou de quatro tratamentos, dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições.

A análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do pacote estatístico Statistica 7.0 (Statsoft, 2004) e submetidos à análise de variância, após a verificação dos pressupostos desse procedimento, e ao teste de média de Tukey, quando necessário, ao nível de 5 % de probabilidade, após a transformação ou não dos dados em seus respectivos logaritmos e raízes quadradas.

Resultados e Discussão

Aplicação do condicionador em solo argiloso para controle de *M. exigua* em cafeeiro.

A adubação convencional ou condicionador, na presença ou ausência do nematóide, promoveram o melhor crescimento das mudas de cafeeiros em solo argiloso, aumentando significativamente ($P < 0,05$) a produção de folhas aos 6 meses e o diâmetro de copa, quando comparados com o tratamento em que não foi feita nenhuma fertilização no solo (testemunha) (Tabela 5).

O condicionador de solo também aumentou significativamente ($P < 0,05$) a altura e a massa da matéria seca da parte aérea, quando comparados com a testemunha e o tratamento em que recebeu a adubação convencional (Tabela 5, Tabela 6). No entanto, o tratamento em que não recebeu nenhum fertilizante (testemunha), apresentou maior massa da matéria fresca das raízes de cafeeiros ($P < 0,05$), quando comparados com os tratamentos que receberam a adubação convencional e o condicionador de solo (Tabela 6).

Pelos resultados, observa-se que os solos são pouco férteis e que a aplicação do condicionador favoreceu o crescimento das mudas de cafeeiro, devido às características químicas dos componentes adicionados.

Como o cafeeiro em sua fase inicial é exigente em fósforo e magnésio e, com o passar do tempo, a absorção de nitrogênio, potássio e cálcio crescem acentuadamente (Catani & Moraes, 1958; Catani *et al.*, 1965), é indispensável a fertilização dos solos pobres com esses nutrientes, podendo ser realizada pela adubação convencional ou pela aplicação do condicionador de solo para resultar em um melhor desenvolvimento das mudas. O fornecimento de micronutrientes, a exemplo de zinco, boro, cobre e manganês, pode ser realizado na cova de plantio (Guimarães *et al.*, 1999), devendo ser misturado ao fertilizante (adubo ou condicionador) para facilitar o processo de implantação da lavoura, reduzindo a entrada dos trabalhadores, nessa fase inicial, para aplicação de fertilizantes em cobertura sobre o solo ou foliar.

Tabela 5. Número de folhas, altura da parte aérea e diâmetro de copa de cafeeiros parasitados ou não por *Meloidogyne exigua* e cultivados em solo argiloso, que recebeu adubação convencional e condicionador de solo, aos 6 meses após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Número de folhas			Altura da Parte Aérea (cm)			Diâmetro de Copa (cm)		
	Nematóide			Nematóide			Nematóide		
	Presente	Ausente	Médias ¹	Presente	Ausente	Médias ¹	Presente	Ausente	Médias ¹
Condicionador	67,3	63,3	65,3 a	47,2	45,3	46,3 a	51,9	50,7	51,3 a
Adubação convencional	56,7	59,0	57,8 a	41,0	40,8	40,9 b	46,4	47,5	47,0 a
Solo (testemunha)	26,5	26,8	26,7 b	35,1	34,1	34,6 c	28,1	26,5	27,3 b
Médias	50,2 ns	49,7		41,1 ns	40,1		42,1 ns	41,6	

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade. ^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade.

Tabela 6. Massa da matéria seca da parte aérea e massa da matéria fresca das raízes de cafeeiros parasitados ou não por *Meloidogyne exigua* e cultivados em solo argiloso, que recebeu adubação convencional e condicionador de solo, aos 6 meses após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (g)			Massa da Matéria Fresca das Raízes (g)		
	Nematóide			Nematóide		
	Presente	Ausente	Médias ¹	Presente	Ausente	Médias ¹
Condicionador	30,3	28,4	29,4 a	34,7	38,2	36,5 b
Adubação convencional	23,2	22,5	22,9 b	28,4	46,4	37,4 b
Solo (testemunha)	10,6	10,7	10,7 c	50,2	63,9	57,0 a
Médias	21,4 ns	20,5		37,8 ns	49,5	

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade. ^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade.

Entre os componentes do condicionador de solo estão a torta de mamona e a palha de café. A torta de mamona é rica em nitrogênio, fósforo e cálcio, já a palha de café, em potássio. Ambos os materiais são ricos em micronutrientes (Kiehl, 1985; Guimarães *et al.*, 2002). No condicionador de solo, a utilização dos fertilizantes orgânicos ou inorgânicos, a exemplo de fosfato natural reativo, sulfato de potássio, ácido bórico, sulfato de zinco, sulfato de cobre e sulfato manganoso complementa as necessidades nutricionais do cafeeiro e libera os nutrientes mais rapidamente do que só a utilização da matéria orgânica, resultando em um bom crescimento das mudas e ainda podendo ser utilizado na agricultura orgânica.

O condicionador de solo reduziu o número de galhas e de ovos de *M. exigua* nas raízes dos cafeeiros ($P < 0,05$), diferindo dos tratamentos que receberam a adubação convencional e da testemunha, onde não foi aplicado nenhum fertilizante (Tabela 7). No entanto, a testemunha apresentou menor número de J₂ de *M. exigua* em 100 cm³ de solo, diferindo significativamente ($P < 0,05$) dos tratamentos em que foram aplicados o condicionador e a adubação convencional.

Tabela 7. Efeito da aplicação do condicionador de solo e da adubação convencional em solo argiloso sobre os números de galhas e de ovos de *Meloidogyne exigua* por sistema radicular de cafeeiros e o número de juvenis de segundo estágio (J₂) em 100 cm³ de solo, aos 6 meses após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Nº galhas ^{1,*}	Nº de ovos ^{1,*}	Nº J ₂ /100 cm ³ de solo ^{1,**}
Condicionador de solo	51,5 b	958,8 c	166,0 b
Adubação convencional	1.022,7 a	143.831,4 a	480,3 a
Testemunha (solo infestado)	644,3 a	8.808,8 b	20,5 c
CV (%)	12,62	14,39	35,93

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade. *Para análise, os valores foram transformados para Log₁₀ (x). **Para análise, os valores foram transformados para $\sqrt[3]{(x)}$.

A torta de mamona possui uma substância tóxica (ricina), que inibe a motilidade dos J₂ no solo, dificultando o seu movimento e a penetração nas raízes (Rich *et al.*, 1989; Rich & Rahi, 1995). Com a penetração comprometida, a formação de galhas e de ovos de *M. exigua* é reduzida. Além disso, sua adição ao solo, além de suprir as necessidades nutricionais das plantas, aumenta o pH do solo, reduz a acidez total, eleva o conteúdo de carbono e promove a melhoria geral na parte física do solo (Lear, 1959). Permite também elevar o poder tampão e a capacidade de troca de cátions do solo (Primavesi, 1980).

Não se conhece ao certo quais os mecanismos de ação da palha de café no controle de fitonematóides, necessitando de mais estudos para elucidar seu efeito. Entretanto, é certa a atividade nematicida, pois Tronconi (1985) verificou que altas concentrações de palha de café no substrato de produção de mudas de cafeeiro inibiram o desenvolvimento e a reprodução de *M. exigua*. Cascas de café a 1 % (p/p) controlaram *M. arenaria* em abóbora (*Cucurbita pepo* L.) no Alabama (Mian & Rodríguez-Kábana, 1982).

Os fungos nematófagos aplicados junto com o condicionador podem ter auxiliado na redução de ovos de *M. exigua* por serem parasitas de ovos e fêmeas, no caso de *P. chlamydosporia* (Stirling, 1991), e parasitas de ovos, no caso de *Trichoderma* sp. (Eapen *et al.*, 2005), onde a presença da matéria orgânica no condicionador pode ter aumentado consideravelmente o estabelecimento dos antagonistas (Cannayane & Rajendran, 2001). Campos (1994) citou que *P. chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus* quando aplicados em conjunto com o esterco de curral reduziu o número de ovos de *M. exigua* no cafeeiro em mais de 57 % quando comparada com a testemunha inoculada apenas com o nematóide.

Apesar da falta de estudos sobre o comportamento de J₂ em raízes de cafeeiro em solos que receberam fungos antagonistas e, ou, matéria orgânica, hipotetiza-se o que pode ter influenciando o número de J₂ no solo foi a modificação no ambiente no interior das raízes, ficando desfavorável ao desenvolvimento e infecção do J₂, estimulando a sua saída das raízes para o solo.

A aplicação do condicionador ao solo, antes do transplântio das mudas de cafeeiro, teve tendência de elevar os teores dos macro e micronutrientes, e da CTC do solo (Tabela 8), quando comparado com o solo natural que não foi aplicado o condicionador (Tabela 2). Ao término do experimento, após 6 meses de cultivo do cafeeiro, o solo onde foi incorporado o condicionador possuía tendência de maiores teores de fósforo, magnésio, zinco, manganês, cobre e boro, quando comparado com o solo que recebeu a adubação convencional, e essa tendência aumenta quando comparados com o solo que não recebeu nenhum fertilizante (Tabela 8).

A adubação convencional acidificou o solo. No entanto, teve tendência de aumentar os teores de potássio, cálcio e enxofre quando comparados com o solo que foi fertilizado com o condicionador (Tabela 8). A acidificação do solo pode ter ocorrido pelo uso do sulfato de amônio (Alcarde, 2007). Possivelmente, o aumento dos teores de enxofre é devido ao uso de sulfato de amônio e superfosfato simples que tem em suas fórmulas 24 % e 11 % de enxofre, respectivamente (Brasil, 2007). O aumento de cálcio deve ter ocorrido pela utilização do superfosfato simples, que possui 18 a 20 % de cálcio em sua formulação (Brasil, 2007).

Tabela 8. Resultado analítico do solo argiloso, antes do transplântio das mudas de cafeeiro após a aplicação do condicionador e aos 6 meses após o transplântio das mudas de cafeeiro para cada tratamento aplicado.

Tratamentos	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	CTC (t)	CTC (T)
	(H ₂ O)	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³					
Solo não infestado logo após aplicação do condicionador (antes do transplântio das mudas)	6,4	75	850	2,8	1,9	0,0	3,96	7,02	7,02	10,98
Solo, ao final do experimento, onde só foi aplicado o condicionador	6,4	120	620	4,5	4,3	0,0	0,83	10,39	10,39	11,22
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicado o condicionador e o nematóide	6,3	127	560	4,3	3,9	0,0	1,15	9,63	9,63	10,78
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicada a adubação convencional	4,9	82	960	11,3	1,1	0,2	6,11	14,86	15,06	20,97
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicada a adubação convencional e o nematóide	4,9	113	910	10,0	1,1	0,2	5,78	13,43	13,63	19,21
Solo, ao final do experimento, não infestado com o nematóide	6,5	4	22	2,2	1,0	0,0	2,64	3,26	3,26	5,90
Solo, ao final do experimento, infestado com o nematóide	6,4	3	14	2,0	0,9	0,0	2,64	2,94	2,94	5,58

(continua ...)

Tabela 8 (... continuação). Resultado analítico do solo argiloso, antes do transplântio das mudas de cafeeiro após a aplicação do condicionador e aos 6 meses após o transplântio das mudas de cafeeiro para cada tratamento aplicado.

Tratamentos	V	m	MO	P-rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
	%		dag kg ⁻¹	mg L ⁻¹			mg dm ⁻³			
Solo não infestado logo após aplicação do condicionador (antes do transplântio das mudas)	64	0	1,3	17,2	62	249	23	18	18	211
Solo, ao final do experimento, onde só foi aplicado o condicionador	93	0	1,6	16,2	46	67	14	9	17	222
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicado o condicionador e o nematóide	89	0	1,9	17,6	47	60	16	10	16	222
Solo, ao final do experimento, não infestado com o nematóide	55	0	1,3	10,4	1	93	9	1	1	38
Solo, ao final do experimento, infestado com o nematóide	53	0	1,5	12,7	1	93	4	1	0	51
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicada a adubação convencional	71	1	1,5	26,1	1	28	5	0	10	241
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicada a adubação convencional e o nematóide	70	1	1,3	25,2	2	80	7	1	8	241

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.

pH em água, KCl e CaCl₂ – Relação 1:2,5

P – Na – K – Fe – Zn – Mn – Cu – Extrator Mehlich 1

Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol/L – pH 7,0

H + Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L – pH 7,0

B – Extrator água quente

S – Extrator – Fosfato monocálcico em ácido acético

SB = Soma de Bases Trocáveis

CTC (t) – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva

CTC (T) – Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0

V = Índice de Saturação por Bases

m = Índice de Saturação por Alumínio

ISNa – Índice de Saturação por Sódio

Mat. Org. (MO) = C.Org x 1,724 – Walkley-Black

P-rem = Fósforo Remanescente

Possivelmente, ao final do experimento, a aplicação do condicionador aumentou os teores de nitrogênio, cálcio, magnésio, zinco, cobre e boro da parte aérea do cafeeiro, quando comparado com as plantas que receberam a adubação convencional (Tabela 9). As plantas que foram cultivadas no solo que recebeu a adubação convencional tiveram a tendência de possuir maior teor de manganês e menor teor de cobre quando comparadas com as plantas que foram cultivadas em solos que receberam o condicionador e em solos que não receberam nenhum fertilizante (Tabela 9).

O aumento do teor de manganês na parte aérea do cafeeiro cultivado em solo que recebeu a adubação convencional pode ser resultado do menor pH do solo, que aumentou sua disponibilidade para planta (Dechen & Nachtigall, 2007).

Na literatura, existem relatos que *M. exigua* reduz a absorção de macronutrientes, como nitrogênio e cálcio (Santos, 1978), e micronutrientes, como zinco, cobre, ferro, manganês e boro em mudas de cafeeiro (Boneti, 1981). Nos tratamentos em que foi aplicado o condicionador e a testemunha, na presença ou não do nematóide, não foi observada essa tendência de redução na absorção desses nutrientes. No entanto, com aplicação da adubação convencional, possivelmente houve redução na absorção dos micronutrientes no solo em que *M. exigua* estava presente. Essas modificações podem ocorrer em função dos distúrbios provocados pelo parasitismo dos nematóides nos mecanismos de absorção e translocação de água e nutrientes (inorgânicos e orgânicos) na planta hospedeira (Hunter, 1958; Kirkpatrick *et al.*, 1964; Arcia *et al.*, 1976; MacDonald, 1979).

Tabela 9. Conteúdo de nutrientes na parte aérea dos cafeeiros submetidos aos tratamentos em solo argiloso, aos 6 meses após o plantio das mudas.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
	g/planta						mg/planta				
Condicionador de solo (solo não infestado)	0,95	0,05	0,68	0,42	0,14	0,03	0,8	5,5	1,0	3,9	7,2
Condicionador de solo (solo infestado)	0,96	0,08	0,70	0,44	0,15	0,04	1,9	12,2	1,2	4,3	7,7
Adubação convencional (solo não infestado)	0,74	0,04	0,77	0,27	0,07	0,03	0,3	7,9	8,3	3,0	4,5
Adubação convencional (solo infestado)	0,76	0,04	0,69	0,27	0,06	0,03	0,3	6,4	7,7	2,3	4,1
Solo não infestado	0,16	0,01	0,17	0,19	0,05	0,01	0,2	3,7	0,7	4,5	0,6
Solo infestado	0,16	0,01	0,18	0,18	0,04	0,01	0,2	3,9	0,6	4,7	0,6

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.

P, K, Ca, Mg, S, Zn, Fe, Mn, Cu – determinados no extrator ácido (ácido nítrico com ácido perclórico); N – Método do Kjeldahl; CO – Método Walkley – Black; B – mufla.

Aplicação do condicionador em solo arenoso para controle de *M. exigua* em cafeeiro.

Para todas as variáveis de produtividade, não houve diferença ($P < 0,05$) entre o cafeeiro cultivado em solo infestado ou não pelo nematóide (Tabela 10, Tabela 11). O condicionador de solo reduziu a massa fresca das raízes das plantas de café ($P < 0,05$), quando comparado com a testemunha (Tabela 11).

O fato de não ocorrer diferença nas variáveis de produtividade avaliadas em solo infestado ou não pelo nematóide mostra que *M. exigua* é um nematóide pouco agressivo e sua maior importância ocorre em áreas onde se implantam lavouras novas de café onde já existiam lavouras velhas (Barbosa *et al.*, 2004). Já a redução da massa fresca das raízes do cafeeiro pode ter ocorrido pelo fato do solo utilizado ser muito arenoso. Nestes solos, qualquer tipo de adubação pode causar dano a mudas, principalmente quando se usam adubos de alto índice salino, como os utilizados no ensaio. Estes podem prejudicar o crescimento inicial das plantas, se aplicado próximos a elas, principalmente em solos com baixa CTC, como o utilizado nesse estudo (Ernani *et al.*, 2007).

No tratamento em que aplicou a adubação convencional houve grande mortalidade das plantas de café, sendo esse tratamento descartado. Esse fato pode ter ocorrido devido ao efeito salino dos adubos. No entanto, no tratamento onde foi aplicado o condicionador, não houve mortalidade de plantas, sendo uma alternativa viável para implantação de lavouras cafeeiras em solos com essas condições. Tanto a adubação convencional quanto a aplicação do condicionador em solos arenosos deve ser feita com muito critério, para se reduzir ao máximo, perdas de mudas após o transplante no campo.

O condicionador não alterou significativamente ($P < 0,05$) o número de folhas, a altura da parte aérea, o diâmetro de copa e a massa da matéria seca da parte aérea do cafeeiro, quando comparado com o solo que não recebeu nenhum fertilizante (testemunha) (Tabela 10, Tabela 11).

Assim como no solo argiloso, a aplicação do condicionador em solo arenoso promoveu reduções significativas no número de galhas e de ovos de *M. exigua* e aumentou o número de J₂ de *M. exigua* no solo ($P < 0,05$) diferindo da testemunha, onde não foi aplicado nenhum fertilizante (Tabela 12).

Tabela 10. Número de folhas, altura da parte aérea e diâmetro de copa de cafeeiros parasitados ou não por *Meloidogyne exigua* e cultivados em solo arenoso, que recebeu o condicionador de solo, aos 6 meses após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Número de folhas			Altura da Parte Aérea (cm)			Diâmetro de Copa (cm)		
	Nematóide			Nematóide			Nematóide		
	Presente	Ausente	Médias	Presente	Ausente	Médias	Presente	Ausente	Médias
Condicionador	40,8	25,5	33,2 ns	33,8	26,7	30,2 ns	37,7	27,8	32,8 ns
Solo (testemunha)	23,5	25,8	24,2	37,4	36,2	36,8	27,3	30,3	28,8
Médias	32,2 ns	25,7		35,6 ns	31,4		32,5 ns	29,0	

^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade.

Tabela 11. Massa da matéria seca da parte aérea e massa da matéria fresca das raízes de cafeeiros parasitados ou não por *Meloidogyne exigua* e cultivados em solo arenoso, que recebeu o condicionador de solo, aos 6 meses após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (g)			Massa da Matéria Fresca das Raízes (g)		
	Nematóide			Nematóide		
	Presente	Ausente	Médias	Presente	Ausente	Médias
Condicionador	15,3	10,3	12,8 ns	25,9	15,8	20,9 *
Solo (testemunha)	9,9	9,7	9,8	48,3	55,2	51,7
Médias	12,6 ns	10,0		37,1 ns	35,5	

* Significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade. ^{ns} Não significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade.

Tabela 12: Efeito da aplicação do condicionador de solo e da adubação convencional em solo arenoso sobre os números de galhas e de ovos de *Meloidogyne exigua* por sistema radicular de cafeeiro e o número de juvenis de segundo estágio (J₂) em 100 cm³ de solo, aos 6 meses após o transplântio das mudas.

Tratamentos	Nº galhas ¹	Nº de ovos ¹	Nº J ₂ /100 cm ³ de solo ¹
Condicionador de solo	36,5*	202,5*	334,7*
Testemunha (solo infestado)	973,7	15.435,6	9,8
CV (%)	41,97	58,78	74,28

* Significativo pelo teste F, a 5 % de probabilidade.

Esta redução se deve, possivelmente, ao efeito combinado da ação das substâncias nematicidas liberadas pela torta de mamona (Rich *et al.*, 1989; Rich & Rahi, 1995), da palha de café sobre *M. exigua* (Tronconi, 1985) e do parasitismo dos ovos e das fêmeas por fungos nematófagos (Stirling, 1991; Eapen *et al.*, 2005).

É possível que o aumento de J₂ no solo deve-se a modificação do ambiente nas raízes, pelos fungos antagonistas ou por alguma substância liberada pela matéria orgânica, tornando as raízes desfavoráveis para o desenvolvimento e infecção dos J₂, como ocorrido no solo argiloso, resultando em um abandono das raízes e migração para o solo.

A aplicação do condicionador no solo arenoso, antes do transplântio das mudas, teve tendência de elevar os teores dos macros, micronutrientes e da CTC do solo (Tabela 13), quando comparado com o solo natural sem a aplicação do condicionador (Tabela 2), como ocorrido no solo argiloso. Ao término do experimento, após 6 meses de cultivo do cafeeiro, o solo onde foi incorporado o condicionador, comparado com o solo que não recebeu nenhum fertilizante (testemunha), possui tendência de apresentar maiores teores de macro e micronutrientes (Tabela 13). Esse possível aumento nos teores de macro e de micronutrientes no solo é devido à composição química dos componentes orgânico do condicionador e pela suplementação desse com sulfato de zinco, sulfato manganoso, sulfato de cobre e ácido bórico.

Tabela 13. Resultado analítico do solo arenoso, antes do transplântio das mudas de cafeeiro após a aplicação do condicionador e aos 6 meses após o transplântio das mudas de cafeeiro para cada tratamento aplicado.

Tratamentos	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	CTC (t)	CTC (T)
	(H ₂ O)	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³					
Solo não infestado logo após aplicação do condicionador (antes do transplântio das mudas)	6,9	75	650	1,6	1,1	0,0	1,32	4,57	4,57	5,89
Solo, ao final do experimento, onde só foi aplicado o condicionador	7,1	142	500	2,1	2,2	0,0	0,00	5,58	5,58	5,58
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicado o condicionador e o nematóide	6,7	142	310	2,1	2,1	0,0	0,33	4,99	4,99	5,32
Solo, ao final do experimento, não infestado com o nematóide	7,2	7	20	1,1	0,5	0,0	0,50	1,65	1,65	2,15
Solo, ao final do experimento, infestado com o nematóide	7,0	4	12	0,9	0,4	0,0	0,66	1,33	1,33	1,99

(continua ...)

Tabela 13 (... continuação). Resultado analítico do solo arenoso, antes do transplântio das mudas de cafeeiro após a aplicação do condicionador e aos 6 meses após o transplântio das mudas de cafeeiro para cada tratamento aplicado.

Tratamentos	V	m	MO	P-rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
	%		dag kg ⁻¹	mg L ⁻¹			mg dm ⁻¹			
Solo não infestado logo após aplicação do condicionador (antes do transplântio das mudas)	78	0	1,8	34,6	62	119	87	63	33	211
Solo, ao final do experimento, onde só foi aplicado o condicionador	100	0	0,3	35,5	57	86	53	12	18	172
Solo, ao final do experimento, onde foi aplicado o condicionador e o nematóide	94	0	0,9	35,5	57	87	53	15	9	120
Solo, ao final do experimento, não infestado com o nematóide	77	0	0,7	28,9	3	167	42	1	1	80
Solo, ao final do experimento, infestado com o nematóide	67	0	0,7	28,9	3	187	41	1	0	31

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.

pH em água, KCl e CaCl₂ – Relação 1:2,5

P – Na – K – Fe – Zn – Mn – Cu – Extrator Mehlich 1

Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol/L – pH 7,0

H + Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L – pH 7,0

B – Extrator água quente

S – Extrator – Fosfato monocálcico em ácido acético

SB = Soma de Bases Trocáveis

CTC (t) – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva

CTC (T) – Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0

V = Índice de Saturação por Bases

m = Índice de Saturação por Alumínio

ISNa – Índice de Saturação por Sódio

Mat. Org. (MO) = C.Org x 1,724 – Walkley-Black

P-rem = Fósforo Remanescente

Em geral, os teores de macronutrientes e micronutrientes na parte aérea das plantas de cafeeiro, ao final do experimento, tiveram tendência de ser mais elevado nos tratamentos onde se aplicou o condicionador, em comparação com o solo que não foi aplicado nenhum fertilizante (testemunha), com exceção do teor de manganês, ferro e cobre (Tabela 14).

Ao final dos experimentos, tanto no solo argiloso como no solo arenoso, foi possível recuperar *Trichoderma* sp. do solo, apresentando, em média, $2,7 \times 10^6$ unidades formadoras de colônia por grama de solo. No entanto, não foi possível recuperar *P. chlamydosporia* dos solos testados. É sabido que *Trichoderma* spp. é um bom antagonista de fungos fitopatogênicos, podendo interferir no desenvolvimento da *P. chlamydosporia*. Embora os resultados obtidos no primeiro capítulo dessa dissertação tenham mostrado que a utilização de *Trichoderma* sp. e *P. chlamydosporia* em conjunto é compatível *in vitro*, em casa-de-vegetação isso talvez não ocorra. Outro fator que explica a inibição da multiplicação de *P. chlamydosporia* pode ser por causa da especificidade dos isolados em colonizar a rizosfera (Bourne, 1994), sendo fundamental para redução da população de nematóide no solo (Kerry & De Leij, 1992). O isolado Pc-10 de *P. chlamydosporia* é eficiente no controle de *M. javanica* no tomateiro, com boa colonização da rizosfera (Dalle-mole-Giaretta, 2008); no entanto, esse isolado não seja capaz de colonizar as raízes de cafeeiros.

Tabela 14: Conteúdo de nutrientes na parte aérea dos cafeeiros submetidos aos tratamentos em solo arenoso, aos 6 meses após o plantio das mudas.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
	g/planta						mg/planta				
Condicionador de solo (solo não infestado)	0,32	0,02	0,26	0,14	0,06	0,02	0,2	2,9	0,6	2,3	3,1
Condicionador de solo (solo infestado)	0,50	0,03	0,40	0,20	0,08	0,02	0,2	2,2	0,9	3,1	5,5
Solo não infestado	0,17	0,02	0,17	0,19	0,04	0,01	0,2	4,5	3,8	5,9	0,6
Solo infestado	0,13	0,02	0,15	0,21	0,04	0,01	0,2	3,4	3,4	4,6	0,6

Análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solos Viçosa Ltda.

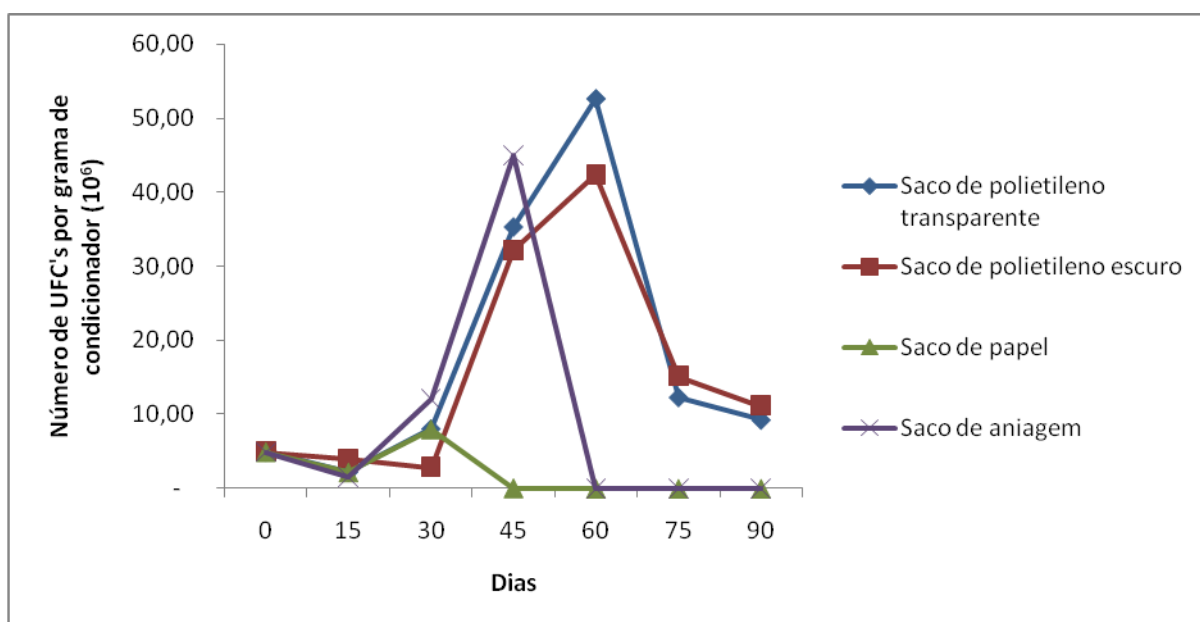
P, K, Ca, Mg, S, Zn, Fe, Mn, Cu – determinados no extrator ácido (ácido nítrico com ácido perclórico); N – Método do Kjeldahl; CO – Método Walkley – Black; B – mufla.

Viabilidade do armazenamento do condicionador de solo.

O armazenamento do condicionador de solo em sacos de polietileno transparentes ou escuros, proporcionou maior sobrevivência de *Trichoderma* sp., que permaneceu viável até aos 90 dias (Figura 1). Quando o condicionador foi formulado, apresentava aproximadamente $5,0 \times 10^6$ unidades formadoras de colônias (UFC's) de *Trichoderma* sp. por grama de condicionador. Ao final do período de avaliação, o condicionador que foi armazenado em sacos de polietileno transparente e escuro continha $9,0 \times 10^6$ e $1,1 \times 10^7$ UFC's por grama de condicionador, respectivamente. No entanto, o fungo não foi recuperado do condicionador armazenado em sacos de papel e de aniagem, após 45 e 60 dias, respectivamente.

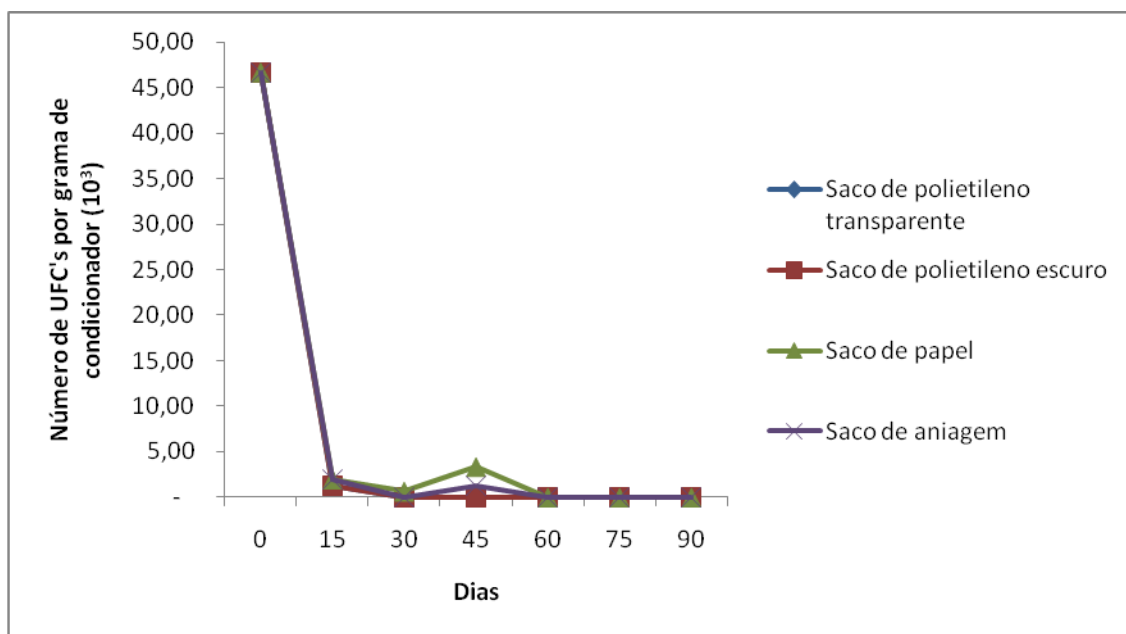
Trichoderma spp. é considerado muito agressivo no seu desenvolvimento e estabelecimento em quase todos os ambientes. Isso ocorre em razão de sua alta capacidade de produção de conídios e pela formação de clamidósporos, que são estruturas de resistência a variações ambientais (Howell, 2003). Os sacos de papel e de aniagem são mais porosos que os sacos de polietileno, permitindo, assim, maior troca de gases e umidade. O aumento dos teores de oxigênio, nas embalagens de papel e de aniagem, pode ter aumentado a germinação dos clamidósporos de *Trichoderma* sp., que em contato com os componentes orgânicos e inorgânicos do condicionador, não foi capaz de assegurar a sua sobrevivência por períodos mais longos. Provavelmente isso não aconteceu com as embalagens de polietileno.

Figura 1. Número de unidades formadoras de colônias (UFC's) de *Trichoderma* sp. no condicionador de solo armazenados em embalagens de polietileno transparente e escuro, papel e aniagem, por um período de 90 dias.



O número de UFC's de *P. chlamydosporia* por grama de condicionador caiu drasticamente em todas as embalagens, até os 15 dias, caindo de $4,7 \times 10^4$ para aproximadamente $3,5 \times 10^3$ UFC's em média por grama de condicionador, permanecendo baixo por todo período avaliado (Figura 2).

Figura 2. Número de unidades formadoras de colônias (UFC's) de *Pochonia chlamydosporia* no condicionador de solo armazenado em embalagens de polietileno transparente e escuro, papel e aniagem, por um período de 90 dias.



P. chlamydosporia produz estruturas de resistência, clamidósporos, que facilitam a sua formulação e permitem maior sobrevivência em condições adversas no solo e no armazenamento (Kerry, 2001). No entanto, a redução na sua viabilidade pode ser explicada pela presença dos materiais orgânicos e inorgânicos concentrados na formulação do condicionador. Cannayane & Rajendran (2001) citam que a presença de substâncias tóxicas na torta de mamona pode reduzir a multiplicação e esporulação de *P. chlamydosporia*. Também foi observado, no condicionador, o aumento da população de *Trichoderma* sp. nos primeiros dias, com o aumento de UFC's. É possível, que nesse período, esse fungo possa ter influenciado na viabilidade da *P. chlamydosporia*, por algum dos seus mecanismos de parasitismo. Talvez, em uma nova formulação, a utilização de *Trichoderma* sp. não seja justificada, pois influencia na sobrevivência e multiplicação de *P. chlamydosporia* no solo e no condicionador.

A disponibilidade de um produto, a exemplo de um condicionador de solo, que forneça uma quantidade extra de nutrientes para a planta, aumente a atividade biológica do solo e permita a redução na população de nematóides é uma alternativa viável. No entanto, deve ainda ser mais bem compreendida. É necessário entender os mecanismos nos quais ocorre o controle, avaliar as modificações nas proporções e nas quantidades dos componentes utilizados, os aspectos econômicos relativos à sua produção, forma de armazenamento e tipos de embalagens para aumentar a sobrevivência dos microrganismos que fazem parte de sua composição e o efeito dos produtos sobre as características física, química e microbiológica de solos naturais, sempre associados ao controle de nematóides. Só assim é que o condicionador de solo estará pronto para ser utilizado pelos agricultores e comercializado por indústrias.

A aplicação de um condicionador de solo em covas de cafeeiros no momento do plantio é uma medida viável para o controle de *M. exigua*, reduzindo sua população no solo arenoso e argiloso. Lopes (2007a) alcançou resultados semelhantes com um condicionador à base de torta de mamona, casca de café, folhas secas de mamona e falso-boldo, sementes trituradas de feijão-de-porco e *P. chlamydosporia* no controle de *M. javanica* em tomateiro. Além disso, o condicionador formulado neste trabalho melhorou as características químicas do solo, promovendo um melhor crescimento das mudas de cafeeiro em sua fase inicial.

Referências Bibliográficas

- ALCARDE, J.C. 2007. Fertilizantes. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L. (eds). Fertilidade do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, pp. 737-768.
- ARCIA, M.A.; VARGAS, M.; CASANOVA, E. & MEREDITH, J.A. 1976. Effect of *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica* on boron deficiency in plants of burley tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Nematopica*, 6:63-67.
- BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., VIANA, A.P. & SILVA, C.P. 2004. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira*, 28:49-54.
- BONETI, J.I.S. 1981. Inter-relacionamento de micronutrientes com o parasitismo de *Meloidogyne exigua* em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Universidade Federal de Viçosa, Tese de Mestrado em Fitossanidade, Viçosa, 74 p.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6(Suplemento): 553. (Resumo).
- BOURNE, J.M. 1994. The importance of the host plant in the biological control of root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. by the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*. PhD thesis, Reading University, United Kingdom.
- BRASIL – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.27, de 05/05/2006.
- BRASIL – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.5, de 23/02/2007.
- CAMPOS, H.D. 1994. Controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 em feijoeiro e *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com fungos predadores e parasitas de ovos de fitonematóides. Escola Superior de Agricultura de Lavras, Tese de Mestrado em Fitossanidade, Lavras, 67 p.
- CAMPOS, V.P. 1997. Café (*Coffea arabica* L.). Controle de doenças: Doenças causadas por nematóides. In: VALE, F.X.R., ZAMBOLIM, L. (Eds.). Controle de doenças de plantas: grandes culturas. UFV, Viçosa, pp. 141-180.
- CANNAYANE, I. & RAJENDRAN, G.SO. 2001. Application of biocontrol agents and oil cakes for the managment for *Meloidogyne incognita* in brinjal (*Solanum melongena* L.). *Current Nematology*, 12:51-55.

- CATANI, R.A & MORAES, F.R.P. 1958. A composição química do cafeeiro - quantidade e distribuição de N, P₂O₅, CaO em cafeeiro de 1 a 5 anos de idade. Revista de Agricultura. Piracicaba, 33:45-62.
- CATANI, R.A.; PELLEGRINO, D.; BERGAMIN FILHO, H.; GLORIA, N.A. & GRANER, C.A.F. 1965. A absorção de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre pelo cafeeiro, *Coffea arabica* var. Mundo Novo (B. Rodr.) Choussy, aos dez anos de idade. Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 22:82-93.
- CONAB. 2007. Companhia Nacional de Abastecimento – Secretaria da Produção e Comercialização/CONAB. Safra brasileira de café estimada 2006/2007. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 19 de dezembro de 2007.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R. 2008. Isolamento, identificação e avaliação de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de tomateiro. Universidade Federal de Viçosa, Tese de Doutorado em Fitopatologia, Viçosa, 83p.
- DECHEN, A.R. & NACHTIGALL, G.R. 2007. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L. (Eds). Fertilidade do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, pp. 91-132.
- EAPEN, S.J.; BEENA, B & RAMANA, K.V. 2005. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. Journal of Invertebrate Pathology, 88:218-225.
- ELAD, Y.; ZIMMAND, G.; ZAQS, Y.; ZURIEL, S. & CHET, I. 1993. Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. Plant Pathology, 42:324-332.
- ERNANI, P.R.; ALMEIDA, J.A. & SANTOS, F.C. 2007. Potássio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L. (eds). Fertilidade do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, pp. 551-594.
- FAO. Statistical Databases. Crops Primary. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em: 19 de dezembro de 2007.
- FERRAZ, S.; DIAS, C.R. & FREITAS, L.G. 2001. Controle de nematóides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. (ed). Manejo Integrado-Fitossanidade: Cultivo protegido, pivô central e plantio direto. Editora UFV, Viçosa, pp. 1-52.

- FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. 1999. Introdução à nematologia. Editora UFV, Viçosa, 84p. (Cadernos Didáticos, 58).
- GASPARD, J.T.; JAFFEE, B.A. & FERRIS, H. 1990. Association of *Verticillium chlamydosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. *Journal of Nematology*, 22: 207-213.
- GONZAGA, V. & FERRAZ, S. 1994. Efeito da incorporação da parte aérea de algumas espécies vegetais no controle de *Meloidogyne incognita* raça 3. *Nematologia Brasileira*, 18:42-49.
- GUIMARÃES, P.T.G; GARCIA, A.W.R.; ALVAREZ V., V.H.; PREZOTTI, L.C.; VIANA, A.S.; MIGUEL, A.E.; MALAVOLTA, E.; CORRÊA, J.B.; LOPES, A.S.; NOGUEIRA, F.D.; MONTEIRO, A.V.C. & OLIVEIRA, J.A. 1999. Sugestões de adubação para o cafeeiro. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. & ALVAREZ V., V.H. (eds). *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (5ª Aproximação)*. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, Viçosa, pp. 289-302.
- GUIMARÃES, P.T.G; NOGUEIRA, F.D.; LIMA, P.C.; GUIMARÃES, M.J.C.L. & POZZA, A.A.A. 2002. Adubação e nutrição do cafeeiro em sistema orgânico de produção. *Informe Agropecuário*, 23:63-81.
- HALBRENDT, J.M. & LAMONDIA, J.A. 2005. Crop rotation and other cultural practices. In: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y & DICKSON, D.W. (Eds.). *Nematology: advances and perspectives*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 909-930.
- HICKMAN, J.S. & D.A. WHITNEY. 1988. Soil conditioners. Disponível em: <http://www.oznet.ksu.edu/library/CRPSL2/ncr295.pdf>. Acessado em: 03 de março de 2008.
- HOWELL, 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87:4-10.
- HUNTER, A.H. 1958. Nutrient absorption and translocation of phosphorus as influenced by a root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* acrita). *Soil Science*, 86:245-250.
- JATALA, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 24:453-489.
- KERRY, B.R. 2001. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: BUTT, T.M.; JACKSON, C. & MAGAN, N. (Eds). *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*. CAB International, Wallingford, 380p.

- KERRY, B.R. & DE LEIJ, F.A.A.M. 1992. Key factors in the development of fungal agents for the control of cyst and root-knot nematodes. In: TJAMOS, E.C., PAPAVIDAS, G.C. & COOK, R.J. (Eds). *Biological Control of Plant Diseases*. Plenum Press, New York, pp.139-144.
- KIEHL, E.J. 1985. *Fertilizantes orgânicos*. Editora Agronômica Ceres Ltda, São Paulo, 492p.
- KIERKPATRICK, J.D.; VAN GUNDY, S.D. & MAI, W.F. 1964. Interrelationships of plant nutrition growth and parasitic nematodes. *Plant analysis and fertilizer problems*, 4:189-225.
- LEAR, B. 1959. Application of castor pomace and cropping of castor beans to soil to reduce nematode populations. *Plant Disease* 43:459-460.
- LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; FERREIRA, P.A.; GARDIANO, C.G. 2005. Control of *Meloidogyne javanica* with organic amendments. *Nematropica*, 35: 82.
- LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P.A.; CARVALHO, S.L.; FREITAS, L.G.; GARDIANO, C.G. & DHINGRA, O.D. 2007a. Formulation of soil conditioners for the control of *Meloidogyne javanica*. *Proceedings of XXXIX ONTA Annual Meeting*, Córdoba – Argentina, p. 80.
- LOPES, E.A. 2007b. *Formulação de condicionadores de solo com propriedades nematicidas*. Universidade Federal de Viçosa, Tese Doutorado em Fitopatologia, Viçosa, 67p.
- LORDELLO, L.G.E. 1982. *Nematóides das plantas cultivadas*. 7 ed. Nobel, São Paulo, 314 p.
- MACDONALD, D. 1979. Some interactions of plant-parasitic nematodes and higher plants. In: KRUPA, S.V. & DOMMERGUES, Y.R. (Ed). *Ecology of root pathogens*, Amsterdam. p.157-178.
- MENDES, B.V. 1975. *Histopatologia de raízes de cafeeiro parasitadas por Meloidogyne exigua*. Universidade Federal de Viçosa, Tese de Mestrado em Microbiologia Agrícola, Viçosa, 54 p.
- MIAN, I.H. & RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 1982. Survey of the nematicidal properties of some organic materials available in Alabama as amendments to soil for control of *Meloidogyne arenaria*. *Nematropica*, 12:235-246.
- PAPAVIDAS, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 23:23-54.
- PRIMAVESI, A. 1980. *Manejo ecológico do solo. A agricultura em regiões tropicais*. São Paulo, SP. Livraria Nobel, 541 p.

- RICH, J.R.; RAHI, G.S.; OPPERMAN, C.H. & DAVIS, E.L. 1989. Influence of the castor bean (*Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. *Nematropica*, 19:99-103.
- RICH, J.R. & RAHI, G.S. 1995. Suppression of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* on tomato with ground seed of castor, crotalaria, hairy indigo, and wheat. *Nematropica*, 25:159-164.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 1986. Organic and inorganic amendments to soil as nematode suppressants. *Journal of Nematology*, 189:129-135.
- SANTOS, J.M. 1978. Efeito de fertilizantes sobre *Meloidogyne exigua* e influência de seu parasitismo sobre a absorção e translocação de nutrientes em mudas de *Coffea arabica* L. Universidade Federal de Viçosa, Tese de Mestrado em Microbiologia Agrícola, Viçosa, 49 p.
- SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I. HERRERA-ESTRELLA, AA.; KLEIFELD, O. & SPIEGEL, Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 91:687-693.
- SMITH, D. & ONIONS, A.H.S. 1983. The preservation and maintenance of living fungi in soil. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 51 p.
- SPIEGEL, Y. & CHET, I. 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. *Integrated Pest Management Reviews*, 3:169-175.
- STATSOFT, Inc. 2004. Statistica for Windows (computer program manual). Tulsa, OK: Statsoft Inc. (<http://www.statsoft.com>).
- STIRLING, G.R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and perspectives. CAB International, Wallingford, 282p.
- TROCONI, N.M. 1985. Alguns aspectos ecológicos de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, parasitando mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Universidade Federal de Viçosa, Tese de Mestrado em Fitopatologia, Viçosa, 80 p.

Conclusões Gerais

- Não houve incompatibilidade entre *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. nos teste de confrontação direta, antibiose e interação entre hifas, mas o crescimento micelial de *P. chlamydosporia* foi reduzido na presença de *Trichoderma* sp. no teste de produção de metabolitos voláteis.
- Os isolados de *P. chlamydosporia* e *Trichoderma* sp., quando aplicados ao solo separadamente ou em conjunto em substratos colonizados, não reduziram a população de *M. exigua* em pimentão.
- A aplicação do condicionador em solo argiloso promoveu um melhor crescimento das mudas de cafeeiros, aumentando o número de folhas, diâmetro de copa, altura e massa da matéria seca da parte aérea. No entanto, não teve influência no desenvolvimento das mudas de cafeeiro cultivadas em solo arenoso.
- O condicionador reduziu a reprodução de *M. exigua* nos solos argiloso e arenoso.
- A aplicação do condicionador de solo teve tendência de melhorar as características químicas dos solos argiloso e arenoso, aumentando os teores dos nutrientes na parte aérea das plantas de cafeeiro cultivadas nesses solos.
- O condicionador mostrou-se viável para implantação do cafeeiro em áreas de cultivo onde se utiliza a agricultura orgânica e uma alternativa para implantação de cafeeiros em solos arenosos e argilosos.
- O armazenamento do condicionador de solo em sacos de polietileno transparente e escuro manteve a população de *Trichoderma* sp. viável por 90 dias em níveis maiores do que quando foi formulado, mas a população de *P. chlamydosporia* caiu drasticamente, em todas as embalagens, até o 15º dia, permanecendo viável em níveis baixos.