

RAFAEL HENRIQUE FERNANDES

**BIONEMATICIDA À BASE DE *Pochonia chlamydosporia* NO CONTROLE DE
Meloidogyne incognita EM CENOURA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa *Campus* de Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

RIO PARANAÍBA
MINAS GERAIS – BRASIL

2014

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca UFV - Campus de Rio Paranaíba**

F363b

Fernandes, Rafael Henrique, 1989-

Bionematicida à base de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne incognita* em cenoura. / Rafael Henrique Fernandes – Rio Paranaíba, MG, 2014.

36 p.: il.; 29cm.

Orientador: Dr. Everaldo Antônio Lopes.

Co-orientador: Dr. Bruno Sérgio Vieira; Dr. Luiz Antonio Maffia.

Trabalho de conclusão de curso (Mestrado em Agronomia-
Produção Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa.

1. Controle Biológico. 2. Fungo nematógrafo. 3. Nematóide das galhas. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 579


Crislene Silva de Souza

RAFAEL HENRIQUE FERNANDES

**BIONEMATICIDA À BASE DE *Pochonia chlamydosporia* NO CONTROLE DE
Meloidogyne incognita EM CENOURA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa *Campus* de Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de julho de 2014



Prof. Marlon Correa Pereira



Prof. Renato Adriane Alves Ruas



Prof. Bruno Sérgio Vieira
(Co-Orientador)



Prof. Everaldo Antônio Lopes
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, João Batista e Maria Ábadia, pelo exemplo de caráter, humildade, honestidade, pelos primeiros ensinamentos, pelo amor e compreensão nas horas de ausência.

Aos meus irmãos, Renato e Raniel, por me motivarem sempre a seguir em frente, pelos valorosos e empolgantes conselhos.

A minha avó Salvina, pelo amor e carinho que dela transbordam.

A minha companheira de todas as horas, Dináza.

A todos vocês...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por me conceder saúde, física e mental, para encarar todos os momentos difíceis desta jornada incansável de viver e buscar meus objetivos.

Agradeço aos meus pais, João Batista e Maria Abadia, por abrirem mão de seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus.

A meus irmãos, Renato e Raniel, por terem aberto as portas do conhecimento ainda quando eu era criança. Por seus exemplos, conselhos, visitas e momentos fraternos.

A minha companheira de todas as horas, minha namorada Dinaíza, por se fazer presente sempre que precisei, pelo incentivo e por nunca desacreditar de mim.

À Universidade Federal de Viçosa *Campus* de Rio Paranaíba pela possibilidade de cursar o Mestrado em Produção Vegetal.

Agradeço de forma especial ao meu Orientador DSc. Everaldo Antônio Lopes pelo incentivo na realização deste trabalho, pela amizade, pelos conselhos que me motivaram a seguir em frente e acreditar mais em mim.

Aos meus Co-Orientadores DSc. Bruno Sérgio Vieira e Ph.D. Luiz Antônio Maffia pelas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas do curso de Agronomia e do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da UFV-CRP, por compartilharem comigo sonhos parecidos e tantos momentos de alegria. De modo especial ao Eng. Agrônomo Remon Ribeiro da Silva pela grande amizade e pelas tantas horas de convivência agradável.

Aos professores que passaram em minha vida acadêmica, em especial os professores: Renato Ruas, Bruno Sérgio Vieira, Marcelo Reis, Carlos Eduardo Magalhães dos Santos, Paulo Afonso Ferreira, Pedro Ivo Good God, Marlon Correa Pereira, Eliseu, Cláudio Pagotto Ronchi. Seus ensinamentos ecoarão para sempre em minha vida.

Aos amigos do grupo de pesquisa em Fitopatologia “Anton De Bary”, Darlan, Amanda, Cícero, Salmo, Miller, Douglas pelo apoio nas diversas atividades desenvolvidas.

Ao técnico de laboratório Fábio Campos, por sempre ‘dar um jeito’, por me ajudar todas as vezes que precisei, pela amizade e convívio. Também aos técnicos Élber, Bruno e Edinei pelo auxílio na realização dos trabalhos de campo.

BIOGRAFIA

Rafael Henrique Fernandes, filho de João Batista Fernandes e Maria Abadia Fernandes Caixeta, nasceu em Patos de Minas - MG, aos 13 de abril de 1989.

Ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa *Campus* de Rio Paranaíba (UFV-CRP) em setembro de 2007, graduando-se Engenheiro Agrônomo em dezembro de 2012.

Em novembro de 2012 iniciou o curso de Mestrado Acadêmico em Produção Vegetal na UFV-CRP, submetendo-se a defesa em 22 de julho de 2014.

INDÍCE

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	4
CAPÍTULO 1: DIFFERENT DOSES OF <i>Pochonia chlamydosporia</i> FOR THE CONTROL OF <i>Meloidogyne incognita</i> ON CARROT.....	7
INTRODUCTION	7
MATERIAL AND METHODS	8
RESULTS AND DISCUSSION	10
CONCLUSION	14
REFERENCES.....	15
CAPÍTULO 2: <i>Pochonia chlamydosporia</i> CONTROLS <i>Meloidogyne incognita</i> ON CARROT	17
INTRODUCTION	17
MATERIALS AND METHODS	18
RESULTS AND DISCUSSION	20
REFERENCES.....	24
CAPÍTULO 3: SOBREVIVÊNCIA DE <i>Pochonia chlamydosporia</i> APÓS DIFERENTES INTERVALOS DE APLICAÇÃO NA SUPERFÍCIE DO SOLO	26
INTRODUÇÃO	26
MATERIAIS E MÉTODOS	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
CONCLUSÕES GERAIS	36

RESUMO

FERNANDES, RAFAEL HENRIQUE. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2014. **Bionemática à base de *Pochonia chlamydosporia* no controle do nematoide das galhas em cenoura.** Orientador: Everaldo Antônio Lopes. Co-orientadores: Bruno Sérgio Vieira e Luiz Antônio Maffia.

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) são um dos principais patógenos da cultura da cenoura em todo o mundo. A aplicação do fungo *Pochonia chlamydosporia* pode ser uma alternativa para o manejo do nematoide das galhas em cenoura. Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de um bionemática à base de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 no controle de *Meloidogyne incognita* na cultura da cenoura em área comercial em Rio Paranaíba e a sobrevivência do fungo após diferentes períodos após a aplicação na superfície do solo em Campo Experimental da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* de Rio Paranaíba. No Capítulo 1, o bionemática Pc-10 foi aplicado em diferentes doses (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 kg.ha⁻¹) na superfície dos canteiros, logo após o semeio. No Capítulo 2, Pc-10 foi incorporado ao solo ou aplicado na superfície dos canteiros na dose de 3 kg.ha⁻¹ e foi comparado com o controle não tratado e com a aplicação dos bionemáticos *Paecilomyces lilacinus* + *Bacillus subtilis* (2 kg.ha⁻¹), mix de fungos nematófagos e *Bacillus* sp. (5 kg.ha⁻¹) e *P. lilacinus* (8 kg.ha⁻¹). Em ambos os experimentos de campo, a produção de raízes comerciais e não comerciais (descarte) e o fator de reprodução do nematoide no solo foram avaliados ao final do ciclo da cultura. No Capítulo 3, avaliou-se a sobrevivência do fungo após 30, 60, 90, 120 e 150 minutos após a aplicação do bionemática na superfície do solo. A produção de raízes de cenoura e a redução da população de nematoide foram influenciadas por doses crescentes de Pc-10. A aplicação de Pc-10 na doses de 3 kg.ha⁻¹ aumentou em 41,7% a produção de raízes comerciais e reduziu em 48,7 e 61,4% a produção de raízes descartadas e o fator de reprodução do nematoide em relação ao controle não tratado, respectivamente. Por sua vez, a incorporação de Pc-10 no solo foi mais eficiente do que a aplicação na superfície dos canteiros em relação ao aumento da produção de raízes comerciais e na redução de raízes descartadas e da população do nematoide. Por fim, a sobrevivência do fungo foi reduzida em função do aumento do tempo de exposição na superfície do solo. O número de unidades formadoras de colônia do fungo foi 81,7 e 94,1% menor aos 150 minutos após a aplicação. Assim, a incorporação do bionemática Pc-10 ao solo, na dose de 3 kg.ha⁻¹, aumenta a sobrevivência do fungo e a produção de raízes comerciais de cenoura e reduz a população de *M. incognita* no solo.

ABSTRACT

FERNANDES, RAFAEL HENRIQUE. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa July, 2014. **Bionematicide based on *Pochonia chlamydosporia* on the control of the root-knot nematode on carrot.** Adviser: Everaldo Antônio Lopes. Co-Advisers: Bruno Sérgio Vieira and Luiz Antônio Maffia.

The root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are one of the most important pathogens of carrot worldwide. The application of the fungus *Pochonia chlamydosporia* may be an alternative for the management of the root-knot nematode on carrot. Thus, the aim of this work was to evaluate the effect of a bionematicide based on *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolate Pc-10 in the control of *Meloidogyne incognita* on carrot in a commercial farm in Rio Paranaíba and the survival of the fungus after different periods of application on the surface of the soil in an experimental field at Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba. In Chapter 1, the bionematicide Pc-10 was applied at different doses (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 and 3.0 kg.ha⁻¹) on the surface of the raised beds after sowing. In Chapter 2, Pc-10 was either incorporated in the soil or applied to the surface of the beds at 3 ha⁻¹ and it was compared with the untreated control and the application of the bionematicides *Paecilomyces lilacinus* + *Bacillus subtilis* (2 kg.ha⁻¹), mix of nematophagous fungi and *Bacillus* sp. (5 kg.ha⁻¹) and *P. lilacinus* (8 kg.ha⁻¹). In both field experiments, the production of commercial and non-commercial (discard) roots and the reproduction factor of the nematode in the soil were evaluated at the end of the crop cycle. In Chapter 3, we evaluated the survival of the fungus at 30, 60, 90, 120 and 150 minutes after application of the bionematicide on the soil surface. The production of carrot roots and the reduction of the nematode population were influenced by increasing doses of Pc-10. The application of Pc-10 at 3 kg.ha⁻¹ increased by 41.7% the production of commercial roots and reduced by 48.7 and 61.4% the production of discarded roots and the reproduction factor of the nematode in the comparison to the untreated control, respectively. In its turn, the incorporation of the Pc-10 in the soil was more effective than the application on the soil surface application in relation to the increase of the production of commercial roots and the decrease of discarded roots and the nematode population. Finally, the survival of the fungus was reduced with increasing time of exposure on the soil surface. The number of colony forming units of the fungus was reduced from 81.7 to 94.1% at 150 minutes after application. The incorporation of the bionematicide Pc-10 in the soil, at 3 kg.ha⁻¹, increases the survival of the fungus and the

production of commercial roots of carrot and reduces the population of *M. incognita* in the soil.

1 – INTRODUÇÃO GERAL

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma das principais hortaliças produzidas no Cerrado Mineiro, com destaque para os municípios de Rio Paranaíba, São Gotardo e Campos Altos. Estes três municípios foram responsáveis por 72,48% do total de cenouras comercializadas no CEASA em Belo Horizonte em 2013. Já no primeiro semestre de 2014, a porcentagem de participação deles foi de 68,98% das cenouras comercializadas (Ceasaminas, 2014).

Os fitonematoides são um dos mais importantes patógenos da cultura da cenoura em todo o mundo, causando perdas que variam de 20% até 100%, dependendo da densidade populacional, suscetibilidade do cultivar, espécie de nematoide, tipo de solo e condições ambientais (Sikora & Fernández, 2005). Mais de noventa espécies de nematoides foram relatadas parasitando a cultura da cenoura, pertencentes aos gêneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Longidorus*, *Paratylenchus*, *Belonalaimus*, *Paratrichodorus*, *Rotylenchus*, *Ditylenchus* e *Hemicycliophora* (Davis & Raid, 2002; Walker, 2004). No Brasil, as espécies que causam mais prejuízos à cultura da cenoura são *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* (Pinheiro & Henz, 2008).

O parasitismo dos nematoides do gênero *Meloidogyne* em cenoura reduz a quantidade e a qualidade do produto colhido. As alterações no formato das raízes (presença de galhas, bifurcação, rachaduras) induzidas pelo ataque de nematoides interferem diretamente na classificação comercial do produto, resultando em rejeição das raízes atacadas (Pinheiro & Henz, 2008).

O manejo integrado de fitonematoides é uma tarefa complexa e difícil, pois geralmente o agricultor desconhece a presença do patógeno na área ou subestima os seus danos (Ferraz et al., 2010). A rotação de culturas, o pousio, o uso de plantas

antagonistas e a utilização do controle biológico estão entre as medidas mais adotadas pelos produtores de cenoura no Cerrado Mineiro.

A preocupação com a qualidade ambiental tem levado à restrição do uso de nematicidas químicos e à busca por alternativas eficientes de controle mediante a utilização de produtos não poluentes ao homem e ao meio ambiente, de custo acessível e fácil aplicação nas lavouras (Salgado & Borges, 2008). Com esta perspectiva, a utilização de agentes de controle biológico de nematoides aumentou nos principais grupos produtores de cenoura, principalmente nos municípios de São Gotardo e Rio Paranaíba.

Os fungos são um dos mais comuns inimigos naturais dos nematoides no solo. Eles compreendem três grupos distintos: os endoparasitos, os predadores e os oportunistas ou parasitas de ovos. Deste último grupo, o fungo *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams (sin= *Verticillium chlamydosporium*) é um dos que possuem maior potencial de uso em programas de biocontrole de nematoides (Nordbring-Hertz et al., 2002; Manzanilla-López et al., 2013).

Pochonia chlamydosporia coloniza e consome ovos e fêmeas de nematoides endoparasitas sedentários (Nordbring-Hertz et al., 2002). Ele libera exoenzimas que são responsáveis pela desintegração parcial da camada vitelínica dos ovos, seguida da penetração da hifa e a dissolução enzimática das camadas de quitina e de lipídios (Manzanilla-López et al., 2013). Além do parasitismo do fungo inibir diretamente o desenvolvimento embrionário do nematoide, a liberação de enzimas aumenta a permeabilidade da casca do ovo e facilita a passagem de micotoxinas, impedindo a eclosão de juvenis de segundo estágio (J₂) (Stirling, 1991). O fungo também é saprófita, fator que permite seu crescimento em matéria orgânica na ausência do patógeno, e ainda produz clamidósporos, estruturas de resistência que aumentam a sua sobrevivência no solo e o tempo de prateleira de bioprodutos (Kerry, 2001).

Em razão dessas características, o uso de *P. chlamydosporia* em programas de controle biológico aumentou nas últimas décadas em vários locais do mundo (Manzanilla-López et al., 2013). No Brasil, inúmeras investigações foram realizadas pelo grupo de pesquisadores do Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides (BIONEMA) da Universidade Federal de Viçosa envolvendo diferentes isolados do fungo (Lopes et al., 2007; Coutinho et al., 2009; Podestá et al., 2009; Dallemole-Giaretta et al., 2010; 2011; 2012), resultando na seleção do isolado Pc-10 de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia*. A partir desse isolado, a Rizoflora Biotecnologia S.A. (Viçosa – Minas Gerais), spin-off do BIONEMA, desenvolveu o bionemático Rizotec[®], que está em processo de registro e doravante será denominado Pc-10.

O bionemático Pc-10 foi eficiente para o manejo de nematoides em diferentes culturas agrícolas, como, por exemplo, banana (Freitas et al., 2009), tomateiro (Dallemole-Giaretta et al., 2012), alface (Dallemole-Giaretta et al., 2013) e pepino (Viggiano et al., 2014). No entanto, o fungo ainda não havia sido avaliado em plantio comercial de cenoura, uma cultura sensível ao ataque do nematoide das galhas. Considerando que Pc-10 tem sido eficaz no controle de nematoides em outras culturas, nossa hipótese era que tal fungo também podia ser aplicado para o manejo do nematoide das galhas em cenoura, demandando apenas avaliar a dose e a forma de aplicação adequada, de modo a permitir o controle do patógeno e a sobrevivência do antagonista.

Com base no exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de Pc-10 no controle de *Meloidogyne incognita* na cultura da cenoura em campo e a sobrevivência do fungo após períodos após a aplicação na superfície do solo.

REFERÊNCIAS

- CEASAMINAS. 2014. Informações de mercado: Cenoura. Disponível em: <http://200.198.51.71/detec/cst_prd_mensal_acompanhamento/cst_prd_mensal_acompanhamento.php>. Acesso em: 10 de julho de 2014.
- COUTINHO, M.M.; FREITAS, L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; NEVES, W.S.; LOPES, E.A. & FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, v.33, n.2, p.169-175, 2009.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; CAVALLIN, I.C.; MARMENTINI, G.A.; FARIA, C.M.R. & RESENDE, J.T.V. Avaliação de um produto à base de *Pochonia chlamydosporia*, no controle de *Meloidogyne javanica* em alface e cenoura no campo. **Nematropica**, v.43, n.1, p.131-137, 2013.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; PODESTÁ, G.S. & AGNES, E.L. Cover crops and *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, v.13, n.8, p.919-926, 2011.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R. FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; PEREIRA, O.L.; ZOOCA, R.J.F. & FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**, Amsterdam, v.42, p.102-107, 2012.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; ZOOCA, R.J.F.; CAIXETA, L. B.; LOPES, E.A. & FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* por meio de aplicação de palha de café colonizada por *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*. **Nematologia Brasileira**, v.34, n.2, p.137-140, 2010.
- DAVIS, R.M. & RAID, R.N. **Compendium of Umbelliferous Crop Diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society. 2002, 75 p.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A. & DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. 2010. Viçosa: Editora UFV, 306 p.
- FREITAS, L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S.; ZOOCA, R.J.F. & PODESTÁ, G.S. Controle biológico de nematoides: Estudo de casos. In: ZAMBOLIM,

L. & PIKANÇO, M.C. (Eds). **Controle biológico de pragas e doenças: Exemplos práticos**. Viçosa: UFV/DFP, p. 41–82, 2009.

KERRY, B.R. 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**. Wallingford: CAB International, p. 155-167, 2001.

LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P.A.; FREITAS, L.G.; DHINGRA, O.D.; GARDIANO, C.G. & CARVALHO, S.L. Potencial de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.31, n.2, p.78-84, 2007.

MANZANILLA-LÓPEZ, R.H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M.M.; HIRSCH, P.R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J. & HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v.45, n.1, p.1–7, 2013.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H.B. & TUNLID, A. Nematophagous fungi. In: **Encyclopedia of Life Sciences**. Macmillan Publishers, Basingstoke, 2002, 10p.

PINHEIRO, J.B. & HENZ, G.P. Manejo do nematóide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) na cultura da cenoura. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 2008. 7p. (Comunicado Técnico, 55).

PODESTÁ, G. S.; FREITAS, L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S. & ZOOCA, R.J.F. Atividade nematófaga de *Pochonia chlamydosporia* em solo natural ou autoclavado sobre *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.33, n.2, p.191-193, 2009.

SALGADO, S.M.L. & BORGES, J. Controle alternativo de fitonematoides. IN: VENZON, M; PAULA JÚNIOR, T.J. & PALLINI, A. (Eds.). **Avanços no controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, p.179-206, 2008.

SIKORA, R.A. & FERNANDÉZ, E. Nematode parasites of vegetables. IN: LUC, M.; SIKORA, R.A. & BRIDGE, J. (Eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. 2nd edition. Wallingford, UK: CAB International, p.319-392. 2005.

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

VIGGIANO, J.R.; FREITAS, L.G. & LOPES, E.A. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne incognita* in cucumber. **Biological Control**, v.69, p.72-77, 2014.

WALKER, G.E. Associations between carrot defects and nematodes in South Australia. **Australasian Plant Pathology**, v.33, n. 4 p. 579-584, 2004.

CAPÍTULO 1

DIFFERENT DOSES OF *Pochonia chlamydosporia* FOR THE CONTROL OF *Meloidogyne incognita* ON CARROT

INTRODUCTION

Carrot (*Daucus carota* L.) is one of the most important vegetable crops in Brazil. It plays an essential role for the economy of many municipalities of the State of Minas Gerais such as Rio Paranaíba and São Gotardo. Since carrot is a labor intensive crop, it has also a relevant social role by offering job opportunities in these regions.

The production of marketable roots of carrot can be strongly reduced in fields infested by root-knot nematodes (RKN), *Meloidogyne* spp Goeldi. Generally, forking and galling induced by RKN result in the discard of the taproots still in the field (Hay & Pethbridge, 2005). In Brazil, growers use crop rotation, fallow, chemical nematicides and biological control agents for the management of nematodes on carrot, with increasing replacement of nematicides by biological products.

During the last decades, the fungus *Pochonia chlamydosporia* Zare & Gams has been studied as a biological control agent of RKN in many countries (De Leij et al., 1992; Stirling & Smith, 1998; Puertas et al., 2006; Dallemole-Giaretta et al., 2012; Manzanilla-López et al., 2013). The fungus colonizes eggs and exposed females of RKN, which reduces the formation of second-stage juveniles (J₂), the infective stage of the pathogen (Kerry, 2001). Besides, the antagonist produces chlamydospores, resistant resting spores; it can be easily cultivated in vitro; and some isolates can colonize the roots of different plant species, increasing the number of chlamydospores in the soil (Manzanilla-López et al., 2013).

In Brazil, the isolate Pc-10 of *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* was screened and applied for the control of *Meloidogyne javanica* in tomato (Dallemole-Giaretta et al., 2012), cucumber (Viggiano et al., 2014), lettuce and carrot (Dallemole-Giaretta et al., 2013), and also for the management of *Meloidogyne incognita* in lettuce (Dias-Arieira et al., 2011). Based on the potential of Pc-10 as a biological control agent of RKN on vegetable crops, we evaluated the effect of doses of Pc-10 on the control of *M. incognita* on carrot under field conditions.

MATERIAL AND METHODS

A bionematicide based on the isolate Pc-10 (Rizotec[®], Rizoflora Biotecnologia S.A., Viçosa – MG) was applied at the doses of 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 and 3.0 kg.ha⁻¹ for the control of *M. incognita* in a commercial carrot field in Rio Paranaíba, Minas Gerais, Brazil (19°18'S; 46°09'W; 1,160 m). The product had 3 x 10⁸ viable chlamydospores.g⁻¹ and was compared with a bionematicide based on the mix of nematophagous fungi and *Bacillus* sp. (5 kg.ha⁻¹, Profix Max[®], Agrivalle Biotecnologia Agrícola, Pouso Alegre – MG). Biological treatments will henceforth be referred to as Pc-10 and FNB, respectively.

Before sowing, lime (1,730 kg.ha⁻¹) and a 02-24-12 N-P-K formulation (2,200 kg.ha⁻¹) were applied to soil. Urea (80 kg.ha⁻¹) and potassium chloride (150 kg.ha⁻¹) were applied at 45 days after sowing (DAS) as top-dressing fertilization, and a 25-00-25 N-P-K formulation (180 kg.ha⁻¹) was applied at 65 DAS.

Raised beds were mechanically prepared (1.80 m wide and 0.4 m between beds) and carrot cv. Juliana was sown at the rate of 26 seeds.m⁻¹. Each bed had four double lines (12 cm between double line and 14 cm between plants within the line). The plants were irrigated by a center pivot system.

For determination of the initial population (P_i) of *M. incognita* before application of the bionematicides, three cores were taken to a depth of 20 cm with a soil auger in order to form a composite soil sample from each experimental plot. Second-stage juveniles (J_2) were extracted from soil samples by the method proposed by Jenkins (1964).

The bionematicides were diluted and applied to the surface of the beds at the experimental plots (each 3 m long) with the aid of a backpack sprayer pressurized with CO_2 , equipped with a bar and two fan type nozzles 11002, spaced 0.5 m apart, with spray volume adjusted to $300 L \cdot ha^{-1}$. The plants were thinned after emergency, leaving $13 plants \cdot m^{-1}$ for final density of $750,000 plants \cdot ha^{-1}$.

Plots were harvested at 104 DAS by digging up the plants from each of two central double lines, discarding 50 cm at each end. Foliage was discarded and taproot mass was evaluated ($kg \cdot plot^{-1}$), according to three categories: marketable, unmarketable without visible galls and unmarketable with visible galls (Walker, 2004). Soil samples were collected from each plot after harvesting the roots to determine the final population of nematodes (P_f). The ratio between P_f and P_i was used to calculate the reproduction factor (RF) of the nematode (Oostenbrink, 1966).

The experiment consisted of 32 plots (eight treatments and four randomized blocks). The average minimum and maximum air temperatures during the experiment were respectively $25.2\text{ }^\circ C$ and $34.0\text{ }^\circ C$.

Normality and homoscedasticity of the data were confirmed by the Kolmogorov–Smirnov test and the Bartlett test, respectively. Linear models were used to evaluate the effect of doses of Pc-10 on the carrot yield and the reproduction factor of the nematode ($P = 0.05$). The comparison between each Pc-10 dose and the bionematicide NFB (standard treatment) was performed using Dunnett's test ($P = 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Increasing doses of Pc-10 up to 3.0 kg.ha⁻¹ increased marketable yield of carrot and reduced the unmarketable roots, according to linear models ($P \leq 0.02$; $R^2 \geq 0.85$). Soil treatment with 2.5 kg.ha⁻¹ of Pc-10 resulted in maximum yield of marketable roots, with increments from 50.1 to 54.7% when compared with the controls, dose 0 (4.92 kg.plot⁻¹) and the standard treatment NFB (5.07 kg.plot⁻¹), respectively. The highest dose of Pc-10 (3.0 kg.ha⁻¹) had similar effect of NFB (Figure 1). In its turn, the production of unmarketable roots was reduced from 40 to 50% when Pc-10 was applied at the highest doses (2.5 and 3.0 kg.ha⁻¹) in comparison to the controls (Figure 1). Galls induced by *M. incognita* were noted in 30 and 15.2% of the discarded roots in the non-treated control and NFB, respectively (Figure 2). On the other hand, galled roots were reduced by more than 90% after the application of the highest doses of Pc-10.

Soil population of *M. incognita* was similar among all treatments both at the beginning (mean of 19 ± 2.27 J₂.100 cm₃ of soil⁻¹) and at the end of the experiment (mean of 18.8 ± 3.72 J₂.100 cm₃ of soil⁻¹) (Figure 3a). However, the reproduction factor (RF) of the nematode was reduced linearly with increased doses of Pc-10 (Figure 3b). The application of 3 kg.ha⁻¹ of Pc-10 reduced by about 60% the RF when compared with the controls (Figure 3b).

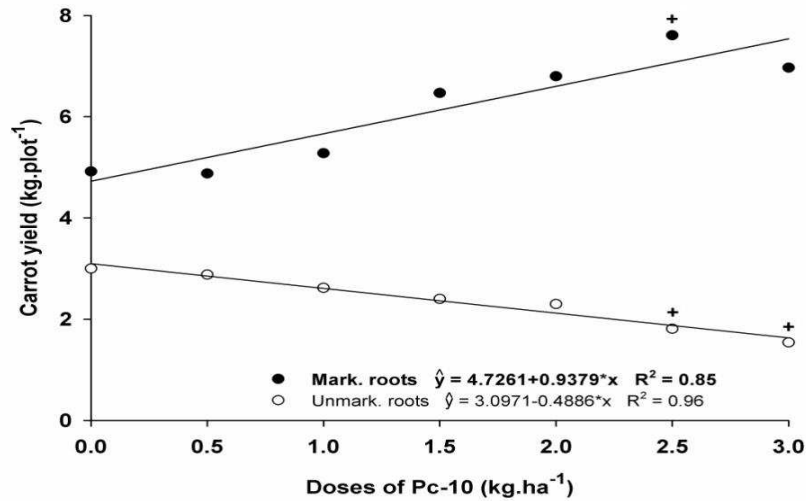


Figure 1 - Carrot (*Daucus carota* cv. Juliana) yield (marketable roots and unmarketable roots) in plots infested with *Meloidogyne incognita* and treated with the different doses of *Pochonia chlamydosporia*-based bionematicide (Pc-10) applied to the surface of the beds. †Doses of Pc-10 are different from the standard treatment, a bionematicide based on a mix of nematophagous fungi + *Bacillus* spp. (NFB), by the Dunnett's test ($P < 0.05$). NFB means = 5.07 kg.plot⁻¹ (marketable roots) and 3.06 kg.plot⁻¹ (unmarketable roots). Coefficient of variation = 17.46% (marketable roots) and 26.05% (unmarketable roots).

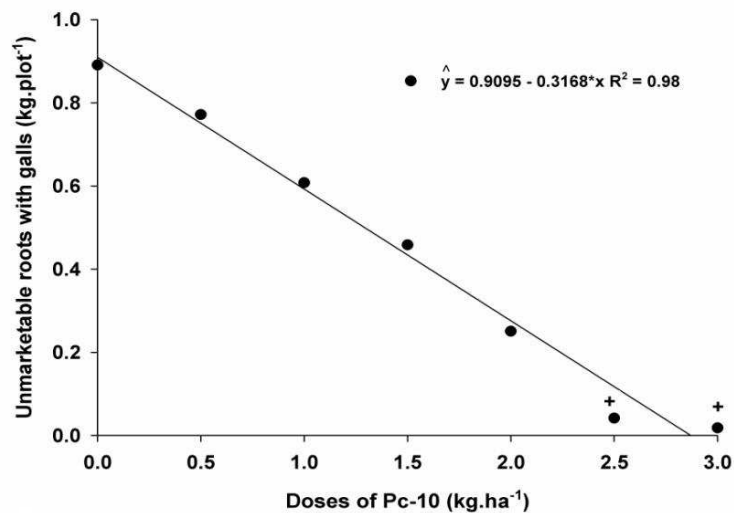


Figure 2 - Carrot (*Daucus carota* cv. Juliana) yield of unmarketable roots with visible galls induced by *Meloidogyne incognita* in plots treated with the different doses of *Pochonia chlamydosporia*-based bionematicide (Pc-10) applied to the surface of the beds. †Doses of Pc-10 are different from the standard treatment, a bionematicide based on a mix of nematophagous fungi + *Bacillus* spp. (NFB), by the Dunnett's test ($P < 0.05$). NFB mean = 0.465 kg.plot⁻¹. Coefficient of variation = 38.49%.

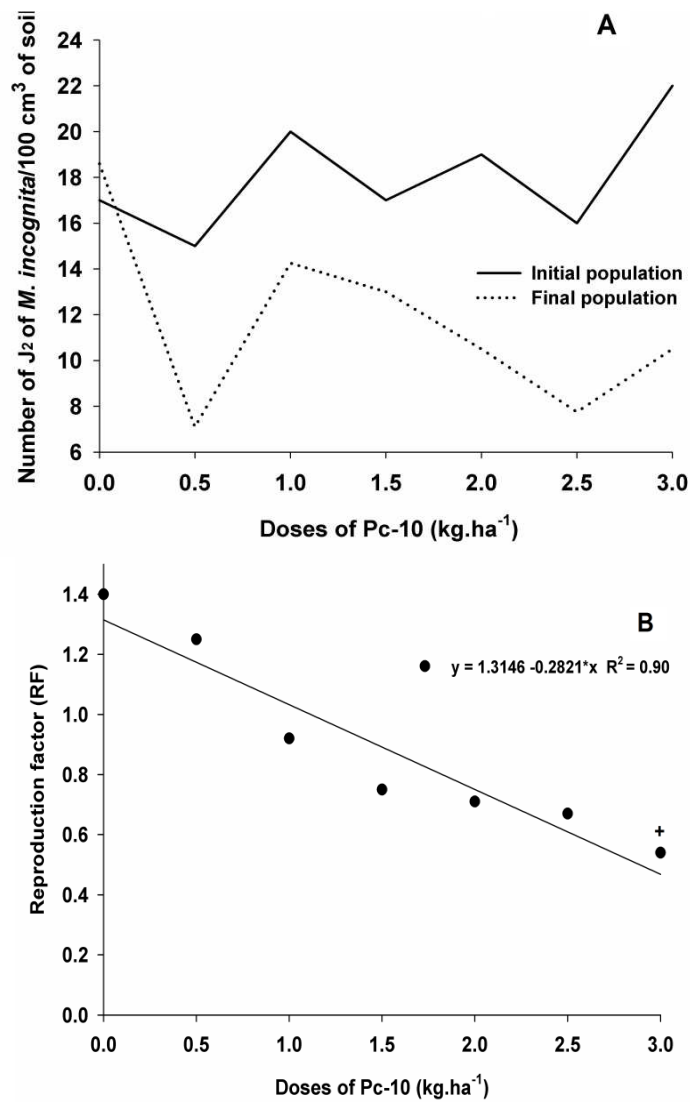


Figure 3 - Population of *Meloidogyne incognita* in the soil (A) at the beginning (initial population – Pi) and at the end of the experiment (final population - Pf) and the reproduction factor ($R_f = P_f/P_i$) of the nematode (B) in plots treated with different doses of *Pochonia chlamydosporia*-based bionematicide (Pc-10) applied to the surface of the beds. †Doses of Pc-10 are different from the standard treatment, a bionematicide based on a mix of nematophagous fungi + *Bacillus* spp. (NFB), by the Dunnett's test ($P < 0.05$). NFB mean = $31.75 J_2 \cdot 100 \text{ cm}_3$ of soil⁻¹. Coefficient of variation = 22.13%.

In the present study, we proved that the application of a bionematicide based on chlamydospores from the isolate Pc-10 of *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* at the dose of $3.0 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ controls *M. incognita* and improves carrot quality and yield. Many studies have been carried out all over the world using *P. chlamydosporia* as a potential biological control agent of plant-parasitic nematodes (Manzanilla-López et al., 2013).

Most of these investigations have been performed under controlled conditions and using sterilized soils, especially for the isolate Pc-10 in Brazil (Coutinho et al. 2009; Podestá et al. 2009; Dallemole-Giaretta et al. 2011; Dallemole-Giaretta et al., 2012). In one of the few previous studies examining the effect of Pc-10 in field trials, the fungus controlled *M. incognita* (Dias-Arieira et al., 2011) and *M. javanica* (Dallemole-Giaretta et al., 2013) in lettuce. So, our research highlighted the nematicidal effect of Pc-10 under conditions of commercial production of carrot.

The increasing of the production of marketable roots and the reduction of *M. incognita* population probably resulted from the rapid colonization of the nematode eggs by Pc-10, preventing the hatching of juveniles (Kerry, 2001). By consequence, both the amount of roots with defects and the multiplication rate of the nematode were reduced. Further studies are needed to confirm whether the fungus, besides reducing the damage caused by nematodes, can also improve the growth of the taproot of carrot, such as observed in tomato (Dallemole-Giaretta et al., 2008) and barley (Maciá-Vicente et al., 2009).

Dose-response studies are important to provide technical information on the development of bionematicides. For *P. chlamyosporia*, it has been currently used 5,000 chlamyospores.g⁻¹ of soil for the management of root-knot nematodes (De Leij et al., 1992; Stirling & Smith, 1998; Viane & Abawi, 2000; Kerry, 2001; Dallemole-Giaretta et al., 2012). However, this amount of inoculum of the fungus may be unfeasible for field application. Taking into account this rate of inoculum (5×10^6 chlamyospores.kg of soil⁻¹), it would be necessary to apply 33.33 kg of Pc-10 per hectare, considering both the concentration of the product (3×10^8 chlamyospores.g⁻¹) and the incorporation of the chlamyospores by the irrigation water to a depth of 20cm (1 ha – 2,000,000 kg of soil).

So, we demonstrated that the bionematicide Pc-10 at the dose of 3.0 kg.ha⁻¹ can be used for the management of *M. incognita* on commercial production of carrot, even when the inoculum amount of the fungus is about 10 times lesser than the used in previous studies. It is plausible that doses of Pc-10 higher than 3.0 kg.ha⁻¹ can be even more effective for the management of the root-knot nematode on carrot. However, the increase of dose of the bionematicide may be cost prohibitive for field applications. Under nematode densities higher than 20 J₂.100 cm₃ of soil⁻¹ (Figure 3a), the integration of Pc-10 with other control methods should be performed to maximize the management of *M. incognita*. Further research will be needed to evaluate the effect of Pc-10 under different nematode densities.

CONCLUSION

The application of 3.0 kg.ha⁻¹ of Pc-10 controls *M. incognita* and improves carrot quality and yield.

REFERENCES

- COUTINHO, M.M.; FREITAS, L.G.; DALLEMORE-GIARETTA, R.; NEVES, W.S.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, p. 169-175, 2009.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; PODESTÁ, G.S.; AGNES, E.L. Cover crops and *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, Leiden, v.13, n.8, p.919-926, 2011.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R. FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; PEREIRA, O.L.; ZOOCA, R.J.F.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**, Amsterdam, v.42, p.102-107, 2012.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; CAVALLIN, I.C.; MARMENTINI, G.A.; FARIA, C.M.R.; RESENDE, J.T.V. Avaliação de um produto à base de *Pochonia chlamydosporia*, no controle de *Meloidogyne javanica* em alface e cenoura no campo. **Nematropica**, DeLeon Springs, v.43, n.1, p.131-137, 2013
- DE LEIJ, F.A.A.M.; KERRY, B.R.; DENNHY, J.A. The effect of fungal application rate and nematode density on the effectiveness of *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita*. **Nematologica**, Leiden, v.38, p.112-122, 1992.
- DIAS-ARIEIRA, C.R.; SANTANA, S.M.; FREITAS, L.G.; CUNHA, T.P.L.; BIELA, F.; PUERARI, H.H.; CHIAMOLERA, F.M. Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v.9, p.561-563, 2011.
- HAY, F.S.; PETHYBRIDGE, S.J. Nematodes associated with carrot production in Tasmania, Australia and the effect of *Pratylenchus crenatus* on yield and quality of Kuroda-type carrot. **Plant Disease**, St. Paul, v.89, p.1175-1180, 2005. JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.48, p. 692, 1964.
- KERRY, B.R. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: Butt,

T.M. et al. (Eds) **Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential**. Wallingford: CAB International, 2001. Cap. 5, p.155-167.

MACIÁ-VICENTE, J.G.; ROSSO, L.C.; CIANCIO, A.; LOPESZ-LLIORCA. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. **Annals of Applied Biology**, Warwickshire, v.155, n.3, p.391-401, 2009.

MANZANILLA-LÓPEZ, R.H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M.M.; HIRSCH, P.R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Hanover, v.45, n.1, p.1–7, 2013.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Meded Landbouwhogeschool Wageningen**, Wageningen, v.66, n.1-46, 1966.

PODESTÁ, G.S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; ZOOCA, R.J.F. Atividade nematófaga de *Pochonia chlamydosporia* em solo natural ou autoclavado sobre *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, p. 191-193, 2009.

PUERTAS, A.; ARÉVALO, J.; Da OCA, M.N.; MIRRANDA, I.; HIDÁLGO-DÍAZ, L. Efecto de diferentes concentraciones de inóculo de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* para el control de *Meloidogyne incognita*. **Revista de Protección Vegetal**, Havana, v.21, n.2, p.74-79, 2006.

STIRLING, G.R.; SMITH, L. Field tests of formulated products containing either *Verticillium chlamydosporium* or *Arthrobotrys dactyloides* for biological control of root-knot nematodes. **Biological Control**, Amsterdam, v. 11, p.231–239, 1998.

VIANE, M.; ABAWI, G.S. *Hirsutella rhossiliensis* and *Verticillium chlamydosporium* as biocontrol agents of the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* on lettuce. **Journal of Nematology**, Hanover, v.32, n.1, p.85–100, 2000.

VIGGIANO, J.R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne incognita* in cucumber. **Biological Control**, Amsterdam, v.69, p.72-77, 2014.

WALKER, G.E. Associations between carrot defects and nematodes in South Australia. **Australasian Plant Pathology**, Rockhampton, v.33, p.579-584, 2004.

CAPÍTULO 2

Pochonia chlamydosporia CONTROLS *Meloidogyne incognita* ON CARROT

(Artigo publicado no periódico **Australasian Plant Pathology**. ISSN: 0815-3191.

v. 43, n. 4, p. 421-424, 2014. doi 10.1007/s13313-014-0283-x)

INTRODUCTION

Plant-parasitic nematodes, especially *Meloidogyne* spp., are one of the most important pathogens of carrot (*Daucus carota* L.) throughout the world, reducing both quantity and quality of marketable roots (Gugino et al. 2006). In Brazil, nematode management strategies on carrot include crop rotation, fallow, nematicides and biological control agents. However, human health safety and environmental concerns have resulted in the reduction of the use of chemical nematicides in many carrot farms, being replaced by biological products.

Among the various natural enemies of nematodes, the fungus *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolate Pc-10 (Pc-10) has great potential for the management of root-knot nematodes (Dallemele-Giaretta et al. 2012). This fungus parasites eggs and exposed females of root-knot nematode, and has the ability of producing a large amount of chlamydospores, resistant structures which allow this organism to persist in the soil during adverse conditions (Dallemele-Giaretta et al. 2012; Yang et al. 2012; Manzanilla-Lopez et al. 2013).

Despite the potential of *P. chlamydosporia* for controlling root-knot nematodes on vegetable crops, there is no empirical evidence that Pc-10 can be used on the management of this nematode on carrot. Thus, we evaluated the effect of a

bionematicide based on the isolate Pc-10 on the control of *M. incognita* on carrot under field conditions.

MATERIAL AND METHODS

A commercial carrot field in Rio Paranaíba, Minas Gerais, Brazil (19°18' S; 46°09' W; 1,160 m) was selected for the experiment. The area was naturally infested with *M. incognita*.

Pochonia chlamydosporia isolate Pc-10 (supplied as Rizotec, 3 kg.ha⁻¹, Rizoflora Biotecnologia S.A., Viçosa - MG) was incorporated into the soil or applied to the surface of the seed beds. The effect of Pc-10 was compared to an untreated control and three bionematicides applied to the surface of the seed beds, namely *Paecilomyces lilacinus* + *Bacillus subtilis* (Rizos Plus, 2.0 kg.ha⁻¹, Laboratório Farroupilha, Patos de Minas - MG), mix of nematophagous fungi and *Bacillus* sp. (Profix Max, 5 kg/ha, Agrivalle Biotecnologia Agrícola, Pouso Alegre - MG) and *P. lilacinus* (Nemout, 8.0 kg/ha, Improcrop do Brasil, Araucária - PR). The biological treatments will henceforth be referred to as PCI (for the incorporated treatment), PCS (for surface application of Pc-10), PLBS (*Paecilomyces lilacinus* + *Bacillus subtilis*), NFB (mix of nematophagous fungi and *Bacillus* sp.) and PL (*Paecilomyces lilacinus*).

Before sowing, soil samples were collected to evaluate the need for correction of soil pH and fertilizer application for crop maintenance. Based on the results of soil analysis (pH 6.05; P 17.24 mg/dm³; Ca⁺² 1.6 cmolc/dm³; Mg⁺² 0.92 cmolc/dm³; 3.7% organic matter; 41.5% clay; 35% sand; 23.5% silt), lime was used to correct pH and provide calcium and magnesium (1,730 kg.ha⁻¹).

The plots, 5.0 m long by 1.80 m wide, were marked before the preparation of the beds with the use of a GPS navigation receiver (Garmin, model Etrex H). The

experiment consisted of 24 plots with 24 treatments distributed in four randomized blocks.

For PCI treatment, Pc-10 was diluted and applied to the surface of the soil with the aid of a backpack sprayer pressurized with CO₂ at 3.02 kgf/cm², equipped with a bar and two fan type nozzles 11002, spaced 0.5 m apart, with spray volume adjusted to 300 L/ha. Following this, the raised beds (1.60 m wide, 0.3 cm high and 0.2 m between beds) were mechanically prepared and a 02-24-12 N-P-K formulation (2,200 kg/ha) was applied for starter fertilisation. Then, Pc-10, previously applied to the surface of the soil, was incorporated into the soil during the preparation of the beds.

Carrot cv. Juliana was sown (26 seeds/m) on November 15th, 2011. Each bed had four twin rows (12 cm between twin row and 14 cm between plants within the row), under centre pivot irrigation. Soil samples were collected from each experimental plot for determination of the initial population (Pi) of *M. incognita* before application of the bionematicides. Composite soil samples, consisted of three cores taken to a depth of 200 mm with a soil auger. Second-stage juveniles were extracted from soil samples by centrifugal-flotation technique (Jenkins 1964). Immediately after sampling, the products were applied to the surface of the beds (PCS, PLBS, NFB and PL) similarly as described above for PCI.

The plants were thinned 15 days after emergence, leaving 13 plants/m for final density of 750,000 plants/ha. Top-dressing fertilization was performed by application of urea (80 kg/ha) and potassium chloride (150 kg.ha⁻¹) at 45 days after sowing (DAS), and a 25-00-25 N-P-K formulation (180 kg/ha) was applied at 65 DAS.

At 104 DAS, plots were harvested by digging up the plants from each of two central double lines, discarding 2.5 m at each end. Foliage was removed and discarded. Taproot mass (kg/plot) were assessed, according to three categories: marketable, unmarketable without visible galls and unmarketable with visible galls (Walker 2004).

Moreover, soil samples were collected from each plot after harvesting the roots to determine the final population of nematodes (Pf). The ratio between Pf and Pi was used to calculate the reproduction factor (R) of the nematode (Oostenbrink 1966). The average minimum and maximum air temperatures during the experiment were respectively 25.2°C and 34.0°C.

All data were tested for normality of the error (Kolmogorov-Smirnov test), homogeneity of variances (Bartlett test) and subjected to analysis of variance ($P = 0.05$). Reproduction factor and production of unmarketable roots data were transformed to square roots to achieve a normal distribution before ANOVA. Means were compared by the Tukey test ($P = 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The incorporation of Pc-10 into the soil (PCI) increased the total and marketable production of carrot roots by 25.35 and 55.03%, respectively (Figure 1). *Pochonia chlamydosporia* may act as a plant growth promoter (Dallemele-Giaretta et al. 2008; Maciá-Vicente et al. 2009) and in carrot the benefit of the fungus was probably related to the improvement of the marketable product, that is, the taproot. However, when Pc-10 was applied on the surface of the beds already prepared (PCS), the total and marketable production of roots were similar to the control and the bionematicides PLBS, NFB and PL. It is likely that the incorporation into the soil protected Pc-10 from the deleterious effect of the solar radiation (Burgess 1998) and also enhanced fungal survival. Additionally, the antagonist was placed in direct contact with or close to the seeds and nematode eggs. Thus, the probability of the fungus establishing itself in the soil and colonizing the rhizosphere of carrot and the eggs of the pathogen was greater, in comparison to the application on the surface of the soil (PCS).

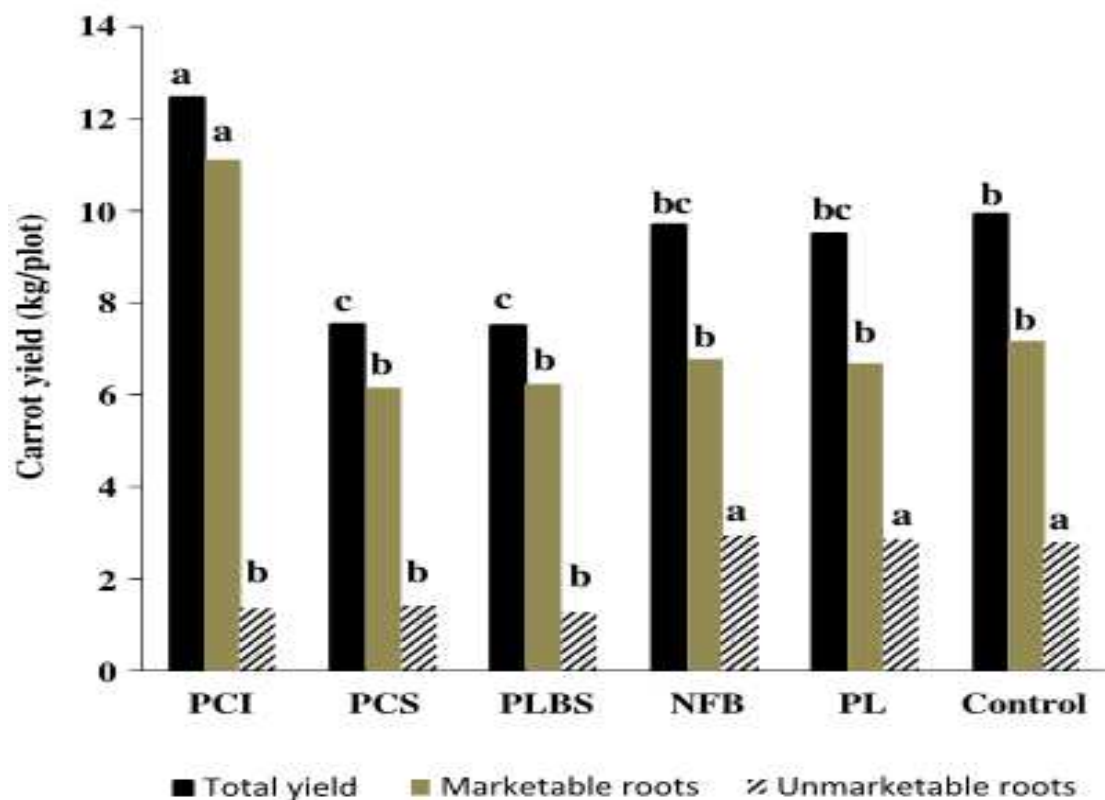


Fig. 1 Carrot (*Daucus carota* cv. Juliana) yield in plots infested with *Meloidogyne incognita* and treated with the *Pochonia chlamydosporia*-based bionematicide applied to the surface of the beds (PCS) or incorporated into the soil (PCI), in comparison with the control and the bionematicides *Paecilomyces lilacinus* + *Bacillus subtilis* (PLBS), mix of nematophagous fungi + *Bacillus* spp. (NFB) and *P. lilacinus* (PL). Means followed by the same letter within each class of roots do not differ by the Tukey test ($P = 0.05$).

The production of unmarketable roots was reduced by about 50% in plots treated with PCI, PCS and PLBS, and it was similar to the control when NFB and PL were applied on the surface of the beds (Fig. 1). All bionematicides reduced the number of unmarketable roots with galls when compared to the control, but only PCI reduced the reproduction factor of the nematode (Table 1). Root-knot nematodes can induce carrot defects, such as galling, forking, fasciculation, constriction and stubbing of roots (Walker 2004). These malformations are one of the main factors contributing to discarding of taproots in the field (Hay and Pethbridge 2005). The action of *P. chlamydosporia* in colonisation of nematode eggs in the soil prevented the hatching of

juveniles (Kerry 2001), especially when the chlamyospores of the antagonist were incorporated into the soil. As a result, the amount of roots infected by *M. incognita*, the final population and the multiplication rate of the nematode were reduced.

Table 1. Population of *Meloidogyne incognita* in th soil and percentage of carrot (*Daucus carota* cv. Juliana) roots infected by the nematode in plots treated with *Pochonia chlamydosporia*-based bionematicide applied to the surface of the beds (PCS) or incorporated into the soil (PCI), *Paecilomyces lilacinus* + *Bacillus subtilis* (PLBS), mix of nematophagous fungi + *Bacillus* spp. (NFB) and *P. lilacinus* (PL).

Treatments	Initial population (Pi)	Final population (Pf)	Reproduction factor (R)	Production of unmarketable roots with galls (%)
PCI	18.2 ns	6.0 d	0.33 b	0 b
PCS	19.6	25.9 c	1.32 a	0 b
PLBS	22.6	17.6 cd	0.78 ab	0 b
NFB	27.0	41.6 b	1.54 a	3.4 b
PL	12.0	19.6 cd	1.63 a	2.1 b
Control	39.5	65.6 a	1.66 a	11.1 a

ns = not significant by the F test ($P = 0.05$). Means followed by the same letter within each column are not significantly different by the Tukey test ($P = 0.05$). Reproduction factor = Final population/Initial population (Oostenbrink 1966).

In Brazil, previous studies have highlighted the efficiency of the isolate Pc-10 on the control of the root-knot nematode (Coutinho et al. 2009; Podestá et al. 2009; Dallemole-Giaretta et al. 2011; 2012). However, these investigations were carried out under controlled conditions and the plants were grown in sterilised soils. This study produced results which corroborate the findings of the researchers about the potential of *P. chlamydosporia* Pc-10 on the management of root-knot nematode, and it was also provided important information about the performance of the fungus on carrot under

field conditions. The incorporation of Pc-10 in the soil of the beds controls *M. incognita* and improves carrot quality and yield. Nevertheless, the integration of the bionematicide with other control methods should be performed to maximize the effect of the fungus, especially under high pressure of nematode inoculum.

REFERENCES

- BURGES, H.D.; KEITH, A.J. Formulation of microbial biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht.
- COUTINHO, M.M.; FREITAS L.G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; NEVES, W.S.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e farinha de sementes de mamão. **Nematologia Brasileira**. v.33, p.169-175, 2009.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; FERRAZ, S.; NEVES, W.S.; LOPES, E.A.; COUTINHO, M.M. Efeito da concentração de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.32, p.327-332, 2008.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; PODESTÁ, G.S.; AGNES, E.L. Cover crops and *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematology**. v.13, p.919-926, 2011.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; PEREIRA, O.L.; ZOOCA, R.J.F.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**. v.42, p.102-107, 2012.
- GUGINO, B.K.; ABAWI, G.S.; LUDWIG, J.W. Damage and management of *Meloidogyne hapla* using oxamyl on carrot in New York. **Journal Nematology**. v.38, p.483-490, 2006.
- HAY, F.S.; PETHYBRIDGE, S.J. Nematodes associated with carrot production in Tasmania, Australia and the effect of *Pratylenchus crenatus* on yield and quality of KURODA-TYPE CARROT. **Plant Disease**. v.89, p.1175-1180, 2005.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease**, v. 48, p.692. 1964.
- KERRY, B.R. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: Butt TM, Jackson C, Magan N (eds) **Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential**. CAB International, Wallingford, p.155-167, 2001.

MACIÁ-VICENTE, J.G.; ROSSO, L.C.; CIANCIO, A.; JANSSON, H.B.; LOPEZ-LLORCA, L.V. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: Effects on plant growth and disease. **Ann Applied Biology**, v.155, p. 391–401, 2009.

MANZANILLA-LÓPEZ, R.H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M.M.; HIRSCH, P.R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Hanover, v.45, n.1, p.1–7, 2013.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Meded Landbouwhogeschool Wageningen**, v.66, p.1-46, 1966.

PODESTÁ, G.S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; ZOOCA, R.J.F. Atividade nematófaga de *Pochonia chlamydosporia* em solo natural ou autoclavado sobre *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, p. 191-193, 2009.

WALKER, G.E. Associations between carrot defects and nematodes in South Australia. **Australasian Plant Pathology**, v.33, p.579-584, 2004.

YANG, J.; LOFFREDO, A.; BORNEMAN, J.; BECKER, J.O. Biocontrol efficacy among strains of *Pochonia chlamydosporia* obtained from a root-knot nematode suppressive soil. **Jornal of Nematology**, v. 44, p. 67–71, 2012.

CAPÍTULO 3

SOBREVIVÊNCIA DE *Pochonia chlamydosporia* APÓS DIFERENTES INTERVALOS DE APLICAÇÃO NA SUPERFÍCIE DO SOLO

INTRODUÇÃO

O fungo *Pochonia chlamydosporia* tem sido usado no mundo todo em programas de controle biológico de fitonematoides em razão de sua capacidade de parasitar ovos e fêmeas de *Meloidogyne* spp. (Nordbring-Hertz et al., 2002; Manzanilla-López et al., 2013). Além disso, esse antagonista possui boa capacidade saprofítica, o que permite seu crescimento em matéria orgânica na ausência de nematoides, e produz clamidósporos, estruturas de resistência que favorecem sua sobrevivência no solo (Kerry, 2001; Manzanilla-López et al., 2013).

Ainda que a produção de clamidósporos seja uma vantagem competitiva para *P. chlamydosporia*, fatores ambientais como a temperatura, umidade do ar e do solo, assim como a radiação solar podem limitar a sobrevivência desse fungo. A faixa de temperatura ideal para o crescimento e esporulação de *P. chlamydosporia* está entre 24 e 28°C (Arevalo et al, 2009). Assim, temperaturas acima ou abaixo dessa faixa reduzem a sobrevivência do fungo. Por sua vez, a radiação solar, sobretudo a UV-A e UV-B é capaz de inativar vários micro-organismos (Braga et al., 2002; Nascimento et al., 2010, Rangel et al., 2011), incluindo *P. chlamydosporia*.

Em áreas produtoras de cenoura no Alto Paranaíba – Minas Gerais, o bionemático à base de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 é usualmente aplicado na superfície do solo e o fungo permanece exposto à radiação solar e elevadas temperaturas por até 2 horas, quando os canteiros são formados e o

antagonista é incorporado ao solo. Desta forma, é possível que a sobrevivência do fungo seja reduzida nessas condições, assim como o efeito do bionemática no controle de nematoides. Com base no exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a viabilidade de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 na superfície do solo após períodos de exposição às condições ambientais.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram realizados no Campo Experimental da Universidade Federal de Viçosa (Campus II), em Rio Paranaíba, em área infestada com *Meloidogyne javanica* (Treub 1885) Chitwood 1949. O objetivo foi avaliar a viabilidade de *P. chlamydosporia* aos 0, 30, 60, 90, 120 e 150 minutos após a aplicação do fungo na superfície dos canteiros.

O solo foi preparado com auxílio de enxada rotativa e os canteiros foram formados com a largura de 1,6 m e 0,30 m de altura. Cada parcela experimental foi delimitada a 2,5 m de comprimento e 1,6 m de largura.

Antes da aplicação do fungo, amostras simples foram coletadas em cinco pontos distintos da parcela, para formar amostras compostas, que foram acondicionadas em papel alumínio e colocadas dentro de caixa de isopor mantida na sombra. A partir dessas amostras, a umidade do solo (US) e a eventual concentração da população nativa de *P. chlamydosporia* foram determinadas. As amostras foram coletadas com um tubo de PVC de 50 mm de diâmetro, que foi introduzido no solo até 5 cm de profundidade.

O bionemática a base de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 (Rizotec®, Rizoflora Biotecnologia S.A., Viçosa-MG) foi diluído em água e aplicado nas parcelas via pulverizador costal dotado de ponta tipo leque 110 02. A dose utilizada foi de 3,0 kg.ha⁻¹ e o volume de calda de 300 L.ha⁻¹.

As amostras de solo foram coletadas logo após a aplicação (0 min) e em intervalos de 30 min até 150 min, conforme descrito anteriormente. Desta forma, os tratamentos consistiram em: **1)** Coleta de amostras de solo antes da aplicação do fungo; **2)** coleta de amostras de solo imediatamente após a aplicação; **3)** coleta após 30 minutos da aplicação; **4)** coleta após 60 minutos da aplicação; **5)** coleta após 90 minutos da aplicação; **6)** coleta após 120 minutos da aplicação; **7)** coleta após 150 minutos da aplicação.

As amostras, previamente acondicionadas dentro de caixa de isopor, foram colocadas em geladeira a 4°C até o seu processamento. A umidade relativa do ar (UR), a irradiância (IR) e a temperatura do ar (TA) e do solo (TS) foram determinadas no momento da coleta das amostras no campo. Por sua vez, a umidade do solo (US) foi mensurada em laboratório por meio do método gravimétrico (Bernardo et al., 2006). As medições de UR, IR e TA foram feitas com o analisador de gás por infravermelho - IRGA (Li-Cor 6400 XT, com fluorescência integrada) e a TS foi medida com termômetro de mercúrio enterrado no solo a 5 cm de profundidade.

Para a determinação do número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *P. chlamydosporia* no solo, alíquotas de 10 gramas de cada amostra foram colocadas em frascos tipo Erlenmeyer de 250 ml, contendo 90 mL de água destilada esterilizada. Em seguida, as amostras foram mantidas em mesa de agitação orbital por 30 minutos à rotação de 200 rpm. A suspensão do solo foi diluída em série até a concentração de 10^{-4} . Alíquotas de 500 µL das diluições 10^{-3} e 10^{-4} foram espalhadas em três placas de Petri de 90 mm de diâmetro contendo meio semi-seletivo para *Pochonia chlamydosporia* (Gaspard et al., 1990). As placas foram mantidas em BOD a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ durante 20 dias. Após esse período, o número de UFC foi avaliado por meio de inspeção visual.

As aplicações foram realizadas em quatro semanas distintas e os dados ambientais estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Condições ambientais no momento da coleta de amostras de solo para recuperação de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 antes ou após a aplicação do bionematicida (0 a 150 minutos) na superfície de canteiros em área experimental localizada em Rio Paranaíba – MG.

Tempo (min)	Temperatura do ar (°C)	Temperatura do solo (°C)	Umidade relativa do ar (%)	Umidade do solo (%)	Irradiância (fótons.m⁻².s⁻¹)
A – B1	24,0 ^a - 24,0 ^b	30,0 ^a - 30,0 ^b	51,0 ^a - 51,0 ^b	16,4 ^a - 16,4 ^b	2200 ^a - 2600 ^b
A – B2	28,0 ^a - 28,4 ^b	32,0 ^a - 33,5 ^b	42,3 ^a - 40,8 ^b	6,3 ^a - 6,3 ^b	1896 ^a - 1580 ^b
A – B3	18,0 ^a - 16,5 ^b	29,0 ^a - 29,0 ^b	52,5 ^a - 52,0 ^b	19,2 ^a - 19,2 ^b	1894 ^a - 500 ^b
A – B4	16,0 ^a - 16,0 ^b	23,0 ^a - 23,0 ^b	67,0 ^a - 67,0 ^b	22,0 ^a - 22,0 ^b	407 ^a - 370 ^b
Média	21,5^a - 21,2^b	28,5^a - 28,8^b	53,2^a - 52,7^b	16,0^a - 16,0^b	1599^a - 1114^b
0 – B1	26,0 ^a - 24,0 ^b	29,5 ^a - 29,0 ^b	52,0 ^a - 49,0 ^b	16,4 ^a - 16,4 ^b	2035 ^a - 1909 ^b
0 – B2	28,0 ^a - 28,4 ^b	32,0 ^a - 33,5 ^b	40,7 ^a - 39,5 ^b	6,3 ^a - 6,3 ^b	300 ^a - 270 ^b
0 – B3	17,9 ^a - 16,5 ^b	29,0 ^a - 29,0 ^b	56,0 ^a - 56,0 ^b	19,2 ^a - 19,2 ^b	1884 ^a - 1907 ^b
0 – B4	16,0 ^a - 16,0 ^b	23,0 ^a - 23,0 ^b	68,0 ^a - 68,0 ^b	22,0 ^a - 22,0 ^b	405 ^a - 279 ^b
Média	21,2^a - 22,0^b	28,5^a - 28,8^b	54,1^a - 53,1^b	16,0^a - 16,0^b	1156^a - 1091^b
30 – B1	25,0 ^a - 25,0 ^b	29,0 ^a - 33,0 ^b	50,0 ^a - 50,0 ^b	16,4 ^a - 16,4 ^b	1894 ^a - 1935 ^b
30 – B2	27,0 ^a - 28,0 ^b	31,0 ^a - 31,0 ^b	46,2 ^a - 41,8 ^b	6,3 ^a - 6,3 ^b	1635 ^a - 1880 ^b
30 – B3	18,0 ^a - 18,0 ^b	29,0 ^a - 28,0 ^b	54,9 ^a - 59,0 ^b	19,2 ^a - 19,2 ^b	2078 ^a - 978 ^b
30 – B4	17,0 ^a - 17,0 ^b	24,0 ^a - 26,0 ^b	65,0 ^a - 65,0 ^b	22,0 ^a - 22,0 ^b	1350 ^a - 2050 ^b
Média	21,8^a - 22,0^b	28,2^a - 29,5^b	54,0^a - 54,0^b	16,0^a - 16,0^b	1739^a - 1711^b
60 – B1	26,0 ^a - 26,0 ^b	32,0 ^a - 32,0 ^b	56,0 ^a - 52,0 ^b	16,4 ^a - 16,4 ^b	450 ^a - 696 ^b
60 – B2	30,0 ^a - 30,0 ^b	35,0 ^a - 35,0 ^b	38,9 ^a - 37,5 ^b	6,3 ^a - 6,3 ^b	437 ^a - 465 ^b
60 – B3	20,0 ^a - 19,0 ^b	30,5 ^a - 31,0 ^b	57,0 ^a - 57,0 ^b	19,2 ^a - 19,2 ^b	2413 ^a - 1074 ^b
60 – B4	21,0 ^a - 21,0 ^b	25,0 ^a - 26,0 ^b	66,0 ^a - 64,0 ^b	22,0 ^a - 22,0 ^b	865 ^a - 780 ^b
Média	24,0^a - 24,0^b	30,7^a - 30,5^b	54,4^a - 52,6^b	16,0^a - 16,0^b	1041^a - 696^b
90 – B1	26,0 ^a - 26,0 ^b	31,5 ^a - 30,5 ^b	49,0 ^a - 49,0 ^b	16,4 ^a - 16,4 ^b	1370 ^a - 1424 ^b
90 – B2	29,0 ^a - 30,0 ^b	36,0 ^a - 35,0 ^b	37,9 ^a - 39,4 ^b	6,3 ^a - 6,3 ^b	2520 ^a - 2618 ^b
90 – B3	18,3 ^a - 20,0 ^b	35,0 ^a - 34,0 ^b	58,0 ^a - 54,0 ^b	19,2 ^a - 19,2 ^b	2325 ^a - 2290 ^b
90 – B4	23,0 ^a - 23,0 ^b	27,0 ^a - 26,5 ^b	57,0 ^a - 57,0 ^b	22,0 ^a - 22,0 ^b	2600 ^a - 2371 ^b
Média	24,1^a - 24,6^b	32,3^a - 31,5^b	50,5^a - 49,9^b	16,0^a - 16,0^b	2204^a - 2176^b

Tabela 1 (Continuação). Condições ambientais no momento da coleta de amostras de solo para recuperação de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 antes ou após a aplicação do bionemático (0 a 150 minutos) na superfície de canteiros em área experimental localizada em Rio Paranaíba – MG.

Tempo (min)	Temperatura do ar (°C)	Temperatura do solo (°C)	Umidade relativa do ar (%)	Umidade do solo (%)	Irradiância (fótons.m⁻².s⁻¹)
120 – B1	24,0 ^a - 24,0 ^b	30,0 ^a - 31,0 ^b	50,0 ^a - 51,0 ^b	16,4 ^a - 16,4 ^b	166 ^a - 160 ^b
120 – B2	30,0 ^a - 29,0 ^b	40,0 ^a - 40,0 ^b	39,6 ^a - 37,5 ^b	6,3 ^a - 6,3 ^b	2300 ^a - 2295 ^b
120 – B3	21,0 ^a - 21,0 ^b	35,0 ^a - 36,0 ^b	54,0 ^a - 54,0 ^b	19,2 ^a - 19,2 ^b	2130 ^a - 2207 ^b
120 – B4	22,0 ^a - 22,0 ^b	26,0 ^a - 27,0 ^b	53,0 ^a - 53,0 ^b	22,0 ^a - 22,0 ^b	1430 ^a - 1460 ^b
Média	24,2^a - 24,0^b	32,7^a - 33,5^b	49,1^a - 48,9^b	16,0^a - 16,0^b	1507^a - 1531^b
150 – B1	25,0 ^a - 25,0 ^b	28,0 ^a - 29,0 ^b	48,0 ^a - 48,0 ^b	16,4 ^a - 16,4 ^b	89 ^a - 750 ^b
150 – B2	29,0 ^a - 30,0 ^b	41,0 ^a - 40,0 ^b	37,7 ^a - 37,5 ^b	6,3 ^a - 6,3 ^b	2380 ^a - 2300 ^b
150 – B3	22,0 ^a - 22,0 ^b	35,0 ^a - 37,0 ^b	53,0 ^a - 51,0 ^b	19,2 ^a - 19,2 ^b	2160 ^a - 2194 ^b
150 – B4	24,0 ^a - 24,0 ^b	27,0 ^a - 28,0 ^b	53,0 ^a - 53,0 ^b	22,0 ^a - 22,0 ^b	1880 ^a - 2140 ^b
Média	25,0^a - 25,1^b	32,7^a - 33,4^b	47,9^a - 47,4^b	16,0^a - 16,0^b	1628^a - 1846^b

A – Antes da aplicação. ^aExperimento 1. ^bExperimento 2. Cada bloco foi representado por quatro dias de aplicação distribuídos em quatro semanas distintas.

O delineamento experimental foi do tipo blocos casualizados (DBC) com sete tratamentos e quatro blocos, com aplicações repetidas no tempo. As repetições consistiram na avaliação ao longo de quatro semanas. O estudo do efeito dos diferentes períodos de aplicação de *P. chlamydosporia* foi efetuado por meio de análise de regressão ($P = 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhuma colônia de *P. chlamydosporia* foi formada após o plaqueamento das amostras coletadas antes da aplicação do bionemático Pc-10 (dados não apresentados),

sugerindo a ausência de isolados nativos do antagonista na área experimental. Desta forma, é possível inferir que as colônias formadas nas coletas posteriores foram originárias do produto aplicado ao solo.

O aumento do período de exposição de *P. chlamydosporia* na superfície dos canteiros reduziu a sobrevivência do fungo, conforme descrito pelo modelo linear $Y = 8.308,6 - 44,814.x$ (experimento 1) e pelo modelo exponencial $Y = 13.854.e^{-0,0184.x}$ (experimento 2). O decréscimo no número de unidades formadoras de colônias (UFC) de Pc-10 foi de 81,77% (Figura 1) e 94,10% (Figura 2) em amostras de solo coletadas aos 150 minutos após a aplicação, em comparação com solo recém tratado com o fungo. No experimento 2, o ponto crítico do modelo exponencial foi de 54,35 minutos de exposição.

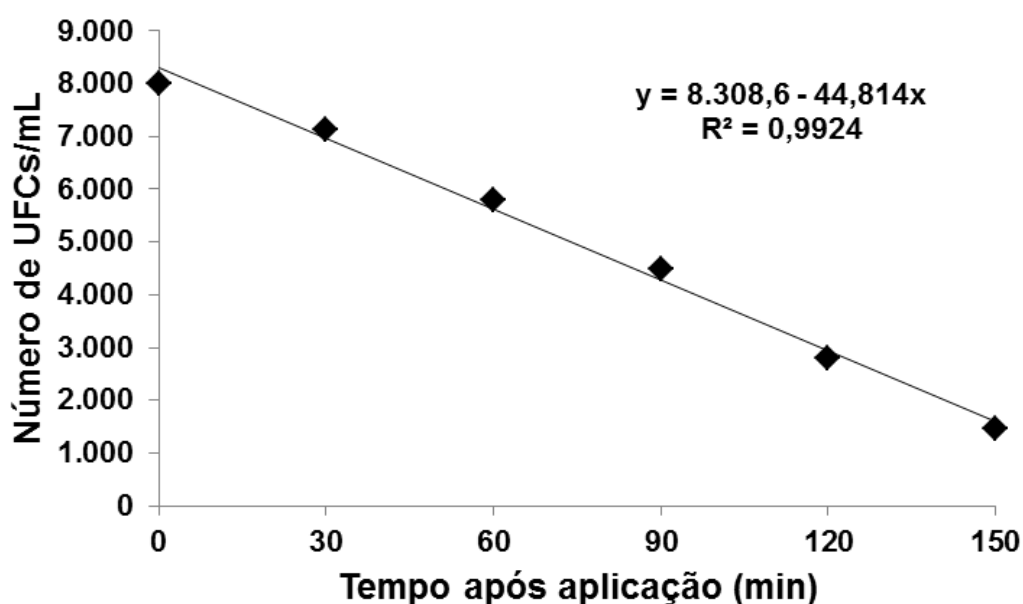


Figura 1. Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 em amostras de solo coletadas em diferentes períodos após a aplicação do bionemático na superfície dos canteiros no Experimento 1.

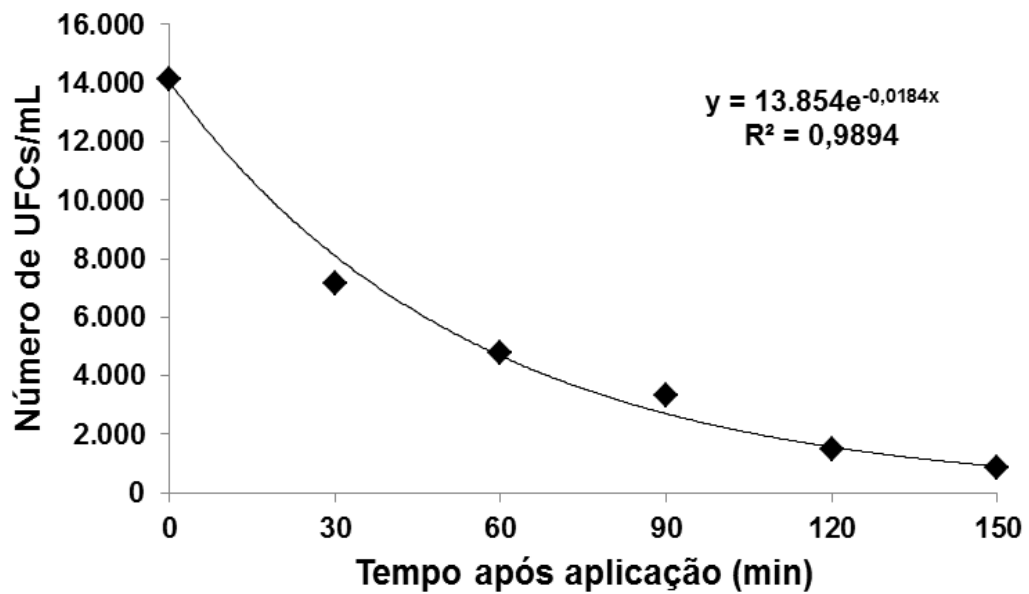


Figura 2. Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10 em amostras de solo coletadas em diferentes períodos após a aplicação do bionemático na superfície dos canteiros no Experimento 2.

Nestes experimentos foi possível comprovar que a exposição do fungo na superfície dos canteiros por períodos prolongados limita a sobrevivência do antagonista. A incorporação do bionemático ao solo aumenta a eficiência do antagonista no controle do nematoide das galhas (Bontempo et al., 2014). Além do fato do fungo ser colocado em contato mais próximo com os ovos do nematoide distribuídos ao longo do perfil do solo, ficou comprovado que a incorporação também aumenta a sobrevivência de *P. chlamydosporia*, protegendo o fungo do efeito deletério da radiação solar (Borges, 1998).

A radiação solar, especialmente os raios UV-A e UV-B, pode interferir diretamente na sobrevivência de agentes de controle biológico no campo e, conseqüentemente, limitar a eficácia de controle de fitopatógenos (Braga et al., 2001; Morandi et al., 2006; Li & Feng, 2009). A exposição de fungos aos raios UV-A e UV-B

pode inativá-los em poucas horas, devido a alterações genéticas e morfológicas (Rotem et al., 1985; Rangel et al., 2006; Santos et al., 2011).

No caso de *P. chlamydosporia*, a produção de clamidósporos aumenta a sobrevivência do organismo no solo, mesmo na ocorrência de vários fatores limitantes, como, por exemplo, ausência de hospedeiro, baixa umidade do solo, aumento de temperatura, dentre outros (Kerry, 2001). Todavia, a sobrevivência do fungo é limitada quando exposto a altas temperaturas e à radiação solar, uma vez que os propágulos do fungo não possuem melanina, composto importante na proteção de inúmeros fungos à ação dos raios solares (Valero et al., 2007).

Por isso, é importante incluir protetores de radiação UV na formulação de determinados agentes de biocontrole (Burgess, 1998) ou propor estratégias de proteção do antagonista, como, por exemplo, a incorporação ao solo, conforme demonstrado por Bontempo et al., 2014.

CONCLUSÃO

A exposição de *P. chlamydosporia* às condições ambientais, especialmente radiação solar e temperatura alta, reduz a viabilidade de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10.

REFERÊNCIAS

- BONTEMPO, A.F.; FERNANDES, R.H.; LOPES, J.; FREITAS, L.G.; LOPES, E.A. *Pochonia chlamydosporia* controls *Meloidogyne incognita* on carrots. **Australasian Plant Pathology**, v.43, n.4, p.421-424, 2014.
- BRAGA, G.U.L.; FLINT, S.D.; MILLER, C.D.; ANDERSON, A.J. & ROBERTS, D.W. Both solar UVA and UVB radiation impair conidial culturability and delay germination in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 74, p.734–739, 2001.
- BRAGA, G.U.L.; RANGEL, D.E.; FLINT, S.D.; MILLER, C.D.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. Damage and recovery from UV-B exposure in conidia of the entomopathogens *Verticillium lecanii* and *Aphanocladium album*. **Mycologia**, v. 94, p.912-920, 2002.
- BURGES, H.D. 1998. **Formulation of microbial biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- COCHRANE, V.W. **Physiology of fungi**. New York: John Wiley, 1958. 542p.
- GASPARD, J.T.; JAFFEE, B.A. & FERRIS, H. Association of *Verticillium chlamydosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. **Journal of Nematology**, v. 22, n.2, p.207-213, 1990.
- MANZANILLA-LÓPEZ, R.H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M.M.; HIRSCH, P.R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 45, n.1, p.1–7, 2013.
- NASCIMENTO, E.; SILVA, S.H.; MARQUES, E.R.; ROBERTS, D.W.; BRAGA, G.U.L. Quantification of cyclobutane pyrimidine dimers induced by UVB radiation in conidia of the fungi *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus nidulans*, *Metarhizium acridum* and *Metarhizium robertsii*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 86, p. 1259-1266, 2010.

- NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H.B. & TUNLID, A. Nematophagous fungi. In: **Encyclopedia of Life Sciences**. Macmillan Publishers, Basingstoke, 10 p. 2002.
- MORANDI, M.A.B.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G.; ALFENAS, A.C.; BARBOSA, J.G. & CRUZ, C.D. Relationships of microclimatic variables to colonization of rose debris by *Botrytis cinerea* and the biocontrol agent *Clonostachys rosea*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 16, p.619–630, 2006.
- LI, J. & FENG, M.G. Intraspecific tolerance of *Metarhizium anisopliae* conidia to the upper thermal limits of summer with a description of a quantitative assay system. **Mycological Research**, v. 113, p.93–99, 2009.
- RANGEL, D.E.N.; BUTLER, M.J.; TORABINEJAD, J.; ANDERSON, A.J.; BRAGA, G.U.L.; DAY, A.W. & ROBERTS, D.W. Mutants and isolates of *Metarhizium anisopliae* are diverse in their relationships between conidial pigmentation and stress tolerance. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 93, p.170–182, 2006.
- KERRY, B.R. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). 2001. IN: BUTT, T.M.; JACKSON, C. & MAGAN, N. (Eds). **Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential**. Wallingford: CAB International, 380p.
- RANGEL, D.E.N.; FERNANDES, E.K.K.; BRAGA, G.U.L. & ROBERTS, D.W. Visible light during mycelia growth and conidiation of *Metarhizium robertsii* produces conidia with increased stress tolerance. **FEMS Microbiology Letters**, v. 25, p. 533-538, 2011.
- ROTEM, J.; WOODING, B. & AYLOR, D.E. The role of solar radiation, especially ultraviolet, in the mortality of fungal spores. **Phytopathology**, v. 75, p.510–514, 1985.
- SANTOS, M.P.; DIAS, L.P.; FERREIRA, P.C.; PASIN, L.A. & RANGEL, D.E. Cold activity and tolerance of the entomopathogenic fungus *Tolypocladium* spp. to UV-B irradiation and heat. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 108, p.209–213, 2011.
- VALERO, A.; BEGUM, M.; LEONG, S.L.; HOCKING, A.D.; RAMOS, A.J.; SANCHIS, V. & MARIN, S. 2007. Effect of germicidal UVC light on fungi isolated from grapes and raisins. **Letters in Applied Microbiology**. v. 45, p.238-243, 2007.

CONCLUSÕES GERAIS

- A dose de 3 kg.ha⁻¹ do bionematicida à base de *Pochonia chlamydosporia* isolado Pc-10 é a mais eficaz no aumento da produção de raízes comerciais e no manejo de *Meloidogyne incognita* em cenoura.
- A aplicação do bionematicida na superfície do solo, na dose de 3 kg.ha⁻¹, seguido da incorporação do antagonista ao solo por meio do preparo mecanizado dos canteiros é uma estratégia mais indicada para garantir que o fungo controle *M. incognita* e aumente a produção de raízes comerciais.
- A exposição de *P. chlamydosporia* às condições ambientais, especialmente radiação solar e temperatura alta, reduz a viabilidade de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolado Pc-10.