



TESTE *IN VITRO* DA PATOGENICIDADE DE FUNGOS CONTRA *Meloidogyne Incognita*

Thaiana Santos Oliveira¹, Priscila Silva Miranda¹, Jecilene Silva de Jesus¹, Jorge Luis Borges de Menezes Filho², Vinícius Lima Cattay²

¹Discente do Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal / UESC/Ilhéus, BA

²Discente do Curso graduação em Agronomia/ UESC/ Ilhéus, BA. thaianaso@gmail.com

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivos realizar testes *in vitro* de patogenicidade de fungos nematófagos (*Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* e *Monacrosporium megalospora*) contra *Meloidogyne incognita*. Estes fungos foram previamente detectados e identificados para realização dos testes *in vitro*. A partir de massas de ovos dos nematoides (cultura pura), foram preparadas suspensões aquosas de juvenis de segundo estágio (J2) para os testes. Discos do meio de cultura BDA (ágar batata dextrose) contendo micélio de culturas puras dos fungos foram transferidos, separadamente, para placas de Petri contendo AA (ágar-água) a 2%. Após o crescimento fúngico, foi colocado em cada placa 1 mL/placa de suspensão de J2 contendo em torno de 100 a 150 J2/mL de cada nematoide. As avaliações foram realizadas após 24, 48 e 72 horas, da inoculação. *Panagrellus redivivus* foi utilizado como testemunha de suscetibilidade aos fungos. Nas condições testadas, *A. musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* e *Monacrosporium megalospora*, foram patogênicos aos fitonematoides em estudo. Ressalta-se que, *A. musiformis* se mostrou mais virulento aos fitonematoides e *A. conoides* ao nematoide-de-vida-livre.

Palavras-chave: Nematóide das galhas. Biocontrole. Fungos nematófagos.

OCCURRENCE OF LEAF-CUTTING ANTS IN THE GENERA *Atta* (HYMENOPTERA: ATTINI) IN THE SOUTHWESTERN REGION OF THE BAHIA

ABSTRACT

The present work aims to perform *in vitro* tests of pathogenicity of nematophagous fungi (*Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* and *Monacrosporium megalospora*) against *Meloidogyne incognita*. These fungi were previously detected and identified for *in vitro* tests. From nematode egg masses (pure culture), aqueous suspensions of second stage juveniles (J2) were prepared for the tests. Discs of BDA (potato dextrose agar) culture medium containing mycelium from pure fungal cultures were transferred separately to 2% AA (water-agar) Petri dishes. After fungal growth, 1 mL / J2 suspension plate containing about 100 to 150 J2 / mL of each nematode was placed on each plate. Evaluations were performed 24, 48 and 72 hours after inoculation. *Panagrellus redivivus* was used as a testament to susceptibility to fungi. Under the conditions tested, *A. musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* and *Monacrosporium megalospora* were pathogenic to the phytonematoids under study. It is noteworthy that *A. musiformis* was more virulent to phytonematoids and *A. conoides* to free-living nematode.

Key words: Gnomes nematoid. Biocontrol. Nematophagous fungi.

INTRODUÇÃO

A produção agrícola está se expandindo cada vez mais devido a maior necessidade de produção de matéria-prima e alimentos e, tais mudanças podem acarretar constantes modificações no meio ambiente. A adoção de manejo inadequado com impactos ambientais pode gerar condições favoráveis ao aparecimento ou aumento das pragas e doenças (BAKER; COOKE, 1974).

Referindo-se aos agentes causais de doenças, os fitonematoides estão entre os principais grupos de fitopatógenos. Na prática, considera-se o controle biológico dos fitonematoides como sendo a redução dos danos causados por estes organismos pela ação de agentes antagonistas (GOMES et al., 1999). De acordo com estes autores, esta redução nos danos pode ocorrer naturalmente, ou pela manipulação do ambiente ou, ainda pela introdução em massa de antagonistas. Devido à multiplicidade de fatores envolvidos nas complexas relações entre nematoides e as plantas hospedeiras, o controle satisfatório raramente é alcançado por uma só medida. Por isso, o controle biológico deve ser considerado como uma das várias medidas complementares em um programa de manejo integrado (GALLO et al., 2002). Dentre as espécies de nematoides que pode aplicar esse controle, têm-se as do gênero *Meloidogyne*.

Meloidogyne Goeldi, 1887, está distribuído nas zonas tropicais e temperadas, sendo fitoparasita de espécies de grande importância agrônômica (CORDEIRO et al., 2008). Nematoides deste gênero provocam galhas nas raízes, o que irá reduzir a absorção de nutrientes e a translocação da água resultando em um menor crescimento da planta (TIHOHOD, 1993). No Brasil, este gênero causa danos consideráveis a produtividade, estando entre os patógenos de maior importância econômica no mundo, considerado impossível cultivar economicamente certas plantas em áreas infestadas sem que haja implementação de rigorosas e sistemáticas medidas de controle (COFECWICZ et al., 2004).

O presente trabalho teve como objetivos: realizar teste *in vitro* da patogenicidade de fungos nematófagos contra *Meloidogyne* spp.; selecionar cepas fúngicas mais virulentas a estes fitopatógenos; mantê-las em diferentes meios de preservação, e incorporá-las à micoteca do Laboratório de Fitopatologia e Nematologia da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-BA.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e Nematologia na Universidade Estadual de Santa Cruz, Campus Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus-BA.

Foi realizada a técnica de cultivo e manutenção de cultura pura de nematoide-de-vida-livre (NVL), descrita por Santos (1991). Posteriormente foi realizado o teste de patogenicidade *in vitro* de fungos nematófagos, onde primeiramente houve a obtenção da suspensão aquosa de

fitonematoides com a presença dos juvenis, ao fim com a utilização da lâmina de Peters, obteve-se uma concentração de 100 a 150 J2/mL.

Os fungos utilizados no teste *in vitro*, *Arrobotrys oligospora*, *A. conoides*, *A. musiformis* e *M. megalospora*, foram obtidos da micoteca do Laboratório de Fitopatologia e Nematologia da UESC. Para detecção destes fungos foi utilizada a técnica de espalhamento de solo descritas por Barron (1977) e modificada por Santos (1991).

Os fungos foram repicados de cultura pura em BDA (ágar batata dextrose) para placa de Petri com AA (ágar-água) a 2%, e adicionado separadamente 1 mL de suspensão contendo de 100 a 150 juvenis de segundo estágio de *M. incognita* raça 1, *M. incognita* raça 3 e como testemunha o *Panagrellus redivivus*. Para cada espécie de nematoide foram utilizadas 16 repetições. A cada quatro repetições foram adicionados 1 mL da suspensão de juvenis de segundo estágio e deixados à temperatura ambiente (20-28 °C), em condições de escuro. As avaliações foram realizadas nos intervalos de 24, 48 e 72 horas, separando os nematoides mortos naturalmente dos mortos predados pelo fungo. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições (uma placa/repetição). Foi avaliada a variável porcentagem de fitonematoides predados diariamente, durante 24, 48 e 72 horas.

Os fungos nematófagos que se demonstraram maior virulência foram armazenados em diferentes tipos de meios de preservação, tais como: tubos de ensaio com meio BDA inclinado recoberto com óleo mineral; tubos de ensaio apenas com meio BDA inclinado; terra esterilizada e água esterilizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de patogenicidade evidenciou que todos os fungos foram patogênicos para o nematoide de vida-livre, *P. redivivus*, em 48 horas após realizada a inoculação (Figura 1). Todos os fungos utilizados, no teste de patogenicidade *in vitro*, predaram as espécies de nematoides estudadas, apresentando altas taxas de predação, em sua maioria (Figura 1).

No período de 24 horas, *M. incognita* raça 1 foi predada pelos fungos *A. oligospora* e *A. musiformis* em 100%, *A. conoides* em 81,8%, e *M. megalospora* em 95,6%. Para *M. incognita* raça 3 as porcentagens de predação pelos fungos foram: *A. oligospora* em 21,34%, *A. conoides* em 25,38%, *A. musiformis* em 32,3%, e *M. megalospora* em 32,88%. Enquanto Castro et al. (2000) avaliaram a capacidade de predação do fungo *A. musiformis* ao fitonematoides *M. incognita* e observaram que a porcentagem de predação foi 62,37%. De acordo com Freitas et al. (1999), essa diferença de predação pode ser explicada porque isolados de uma mesma espécie de fungo procedentes de regiões geográficas diferentes, variam quanto a capacidade parasítica *in vitro*.

Para o nematoide-de-vida-livre, *Panagrellus redivivus*, houve predação de 100% por *A. conoides* e 99,2% de *A. oligospora*. No período de 24 h os fungos foram eficientes em predar *M. incognita* raça 1, contudo a percentagem de predação para *M. incognita* raça 3 foi abaixo de 70%. Segundo Santos (1996), para que um fungo nematófago seja promissor para ser utilizado no biocontrole de fitonematoides deve apresentar predação acima de 70% em testes *in vitro*, porque as condições são controladas. Enquanto no campo, existem outros fatores como patógenos competidores, pH do solo, umidade, aplicação de defensivos agrícolas, entre outros, que podem diminuir a eficiência dos fungos em predar e/ou colonizar o solo.

No período de 48 h todos os fungos atingiram percentagens acima de 70%, exceto *A. oligospora* em Mir3, e em 72 h a predação foi de 100% para a maioria dos nematoides em estudo, com exceção de *A. conoides* em Mir3 e *A. oligospora* em Me. (Figura 1).

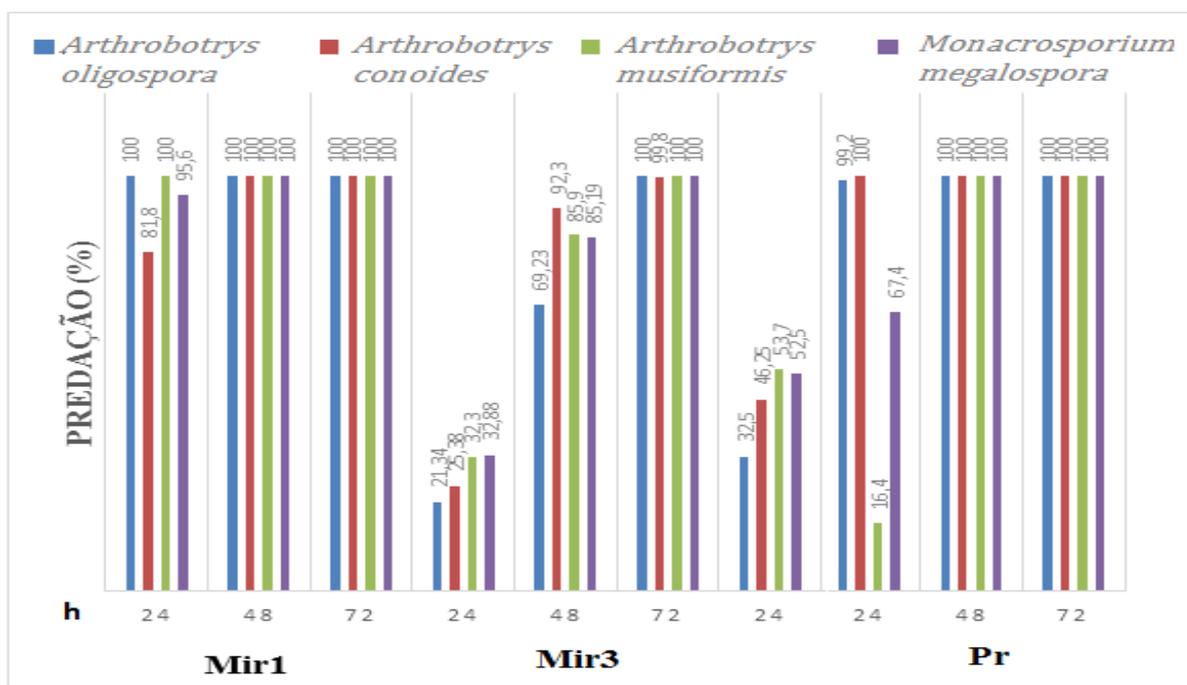


Figura 1 - Percentagem de predação de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* raça 1 (Mir1), *Meloidogyne incognita* raça 3 (Mir3) e *Panagrellus redivivus* (Pr) após 24, 48 e 72 horas de inoculação.

Para todos os fungos avaliados houve uma alta taxa de predação, mostrando que o nematoide-de-vida-livre, *P. redivivus*, é suscetível a todos os fungos testados neste estudo. A suscetibilidade de *P. redivivus* foi detectada e relatada por Gomes et al., 1999; Silveira (Maia) et al., 2001.

Visando estudos futuros, as espécies fúngicas de maior virulência foram isoladas, armazenadas e incorporadas à micoteca do Laboratório de Fitopatologia e Nematologia da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-BA.

CONCLUSÕES

Os fungos *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* e *Monacrosporium megalospora* são virulentos à *Meloidogyne incognita* raça 1, *M. incognita* 3.

Nas condições em que a pesquisa foi realizada *A. musiformis* se mostrou mais virulento contra os fitonematóides em estudo e, *A. oligospora* ao nematoide de vida livre *Panagrellus redivivus*.

REFERÊNCIAS

BAKER, K. F.; COOKE, R. J. 1974. Biological control of plant pathogens. São Francisco: W. H. Freeman and Co. 433p.

BARRON, G. L. 1977. The nematode-destroying fungi. Ontario: Canadian Biological Publications. 140p.

CASTRO, J. M. C. et al. 2000. Capacidade de predação de *Arthrobotrys musiformis* a fitonematóides. Summa Phytopathologica, Botucatu, 26, (1): 58-61.

COFECWICZ, E. T. et al. 2004. Reação de cultivares de bananeira a diferentes espécies de Nematóides de Galhas. Nematologia Brasileira, Piracicaba, 28 (1): 11-22.

CORDEIRO, M. C. R.; GOULART, A. M. C.; COSTA, A. M.; SHARMA, R. D. 2008. Identificação molecular de nematóides de Galhas *Meloidogyne* spp. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 219. Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária - Embrapa Cerrados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 30p.

FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; ALMEIDA, S. A. 1999. Controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro pela produção de mudas em substrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. Nematologia Brasileira, Brasília, 23 (1): 65-73.

GALLO, D. et al. 2002. Entomologia agrícola. FEALQ, Piracicaba, 920 p.

GOMES, A. P. S.; ARAÚJO, J. V.; RIBEIRO, R. C. F. 1999. Differential *in vitro* pathogenicity of predatory fungi of genus *Monacrosporium* phytonematodes, free-living nematodes and parasitic nematodes of cattle. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, São Paulo, 32 (1): 79-83.

SANTOS, M. A. 1996. Estudo de alguns fungos endoparasitos e predadores no controle de fitonematóides. Tese Doutorado. Viçosa, UFV. 166p.

SANTOS, M.A. 1991 Detecção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos do Brasil. Viçosa, 97p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa,.

SILVEIRA (MAIA), A. J. 2001. Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*. Tese Doutorado. Jaboticabal, FCAJ. 117p.

TIHOHOD, D. 1993. Nematologia Agrícola Aplicada. Jaboticabal: FUNEP. 372p.