

Patogenicidade in vitro de *Monacrosporium robustum* a *Rotylenchulus reniformis*¹

In vitro pathogenicity of *Monacrosporium robustum* to *Rotylenchulus reniformis*

Eduardo Roberto de Almeida Bernardo² Jaime Maia dos Santos³

-NOTA-

RESUMO

O nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) é um importante patógeno de importantes culturas brasileiras, tais como soja, algodão, feijão, caupi, maracujazeiro, mamoeiro, tomate e alface, entre outras. Dentre os fungos nematófagos com potencial de utilização comercial como agentes do controle biológico de nematóides, destacam-se espécies do gênero *Monacrosporium*. No presente estudo, avaliou-se, in vitro, a capacidade predatória e de parasitismo de *Monacrosporium robustum* ao nematóide reniforme. Em períodos de 24, 48 e 72 horas após, constatou-se que a percentagem de predação do nematóide pelo fungo foi de, respectivamente, 81,3, 99,9 e 100.

Palavras-chave: controle biológico, nematóide reniforme, microscopia eletrônica de varredura, fungos nematófagos.

ABSTRACT

The reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis*) is an important pathogen of many of the most important Brazilian crops such as soybean, cotton, beans, cowpea, passiflora, papaya, tomato, lettuce, among others. Among the nematophagous fungi with potential of commercial utilization as agents of biological control of nematodes are the species of *Monacrosporium*. The predatory capacity of *Monacrosporium robustum* to the reniform nematode was evaluated in vitro. The percentage of predatism was 81.3%, 99.9% and 100% at 24, 48 and 72h, respectively, after inoculation.

Key words: biological control, reniform nematode, scanning electron microscopy, nematophagous fungi.

O nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940) é uma das principais pragas de solo nos países tropicais e

subtropicais do mundo. Infecta mais de 140 espécies de plantas de mais de 115 gêneros, pertencentes a 46 famílias. Dessa larga faixa de hospedeiros, 57 espécies de mais de 40 gêneros e 28 famílias são consideradas de importância econômica (JATALA, 1991). É considerado praga-chave das culturas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. raça latifolium), soja [*Glycines max* (L.) Merr.], tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), entre outras (BARKER, 1974). Na cultura do algodoeiro, esse nematóide usualmente causa perdas de 10 a 25%, podendo chegar a 50% em condições de déficit hídrico (KIRKPATRICK & ROBBINS, 2000). Estimativas recentes indicaram que *R. reniformis* causou perdas de 10,7% à produção de algodão nas principais regiões produtoras dos EUA (BLASINGAME, 2000).

O sucesso econômico e ecológico do manejo de *R. reniformis* e de outros nematóides requer a adoção de medidas de manejo combinadas, tais como medidas de exclusão, rotação de culturas, controle químico, variedades resistentes, controle biológico e outras (KERRY, 1987). Os mesmo autor relata que vários agentes, notadamente fungos nematófagos e a bactéria *Pasteuria penetrans*, poderão constituir alternativas viáveis.

Entre os fungos nematófagos, espécies do gênero *Monacrosporium* têm sido alvo de estudos. Vários autores têm demonstrado que *M. elliposporum* e *M. gephyrophagum* (JAFEE & MULDOON, 1997) têm a capacidade de suprimir *Meloidogyne spp.* e que *M. gephyrophagum*

¹Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), realizada com bolsa do Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e auxílio à pesquisa da Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP), (Processo nº. 01/00553-2)

²Engenheiro Agrônomo, Mestre em Agronomia, UNESP, FCAV, Departamento de Fitossanidade, Rua Osvaldo Tonini, 205B, Nova Jaguariúna, 13820-000, Jaguariúna, SP. E-mail: erabernardo@hotmail.com. Autor para correspondência.

³Professor Assistente Doutor, Nematologista, UNESP, FCAV, Departamento de Fitossanidade.

controlou *Meloidogyne javanica* quando utilizaram o inóculo contendo 3.000 conídios/g de solo. A ocorrência de *Monacrosporium robustum* no Brasil e observou que, entre 25 fungos testados, esse predou 94,8% de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita*, 100% de juvenis de *M. javanica* e 85,3% de juvenis de *Heterodera glycines*, no período de 24 horas de exposição dos nematóides às culturas dos fungos (MAIA, 2000).

Estudando o ciclo de vida de *R. reniformis*, SIVAKUMAR & SISHADRI (1971) observaram que os juvenis dos estádios J2, J3, J4 e os machos do nematóide não eram infectivos e, portanto, encontravam-se livres no solo. Considerando que se trata de um nematóide de hábito semi-endoparasita sedentário, é tido como mais vulnerável à ação de agentes do controle biológico que as espécies de hábito endoparasita, tais como *Meloidogyne spp.* (DUNCAN & NOLING, 1998).

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a capacidade predatória de *M. robustum* a *R. reniformis*, documentar ao microscópio eletrônico de varredura os principais caracteres morfológicos, suas estruturas de captura e espécimes do nematóide capturados pelo fungo.

No Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal, SP, foram obtidas culturas puras de *Monacrosporium robustum* de amostras de solo coletadas em seringal do Município de Itiquira, MT. Discos de micélio (0,5cm de diâmetro) foram transferidos para placas de Petri contendo ágar-água a 2% e incubados em estufa do tipo BOD, na ausência de luz, à temperatura de 26°C + 1 por 4 dias. A seguir, foi adicionado 0,5mL de suspensão de juvenis, fêmeas jovens e machos de *R. reniformis* contendo, em média, 35 espécimes por placa e incubados nas mesmas condições. Para verificação da porcentagem de predação, foram adotadas sete repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa. Durante 72 horas consecutivas, em intervalos de 24 horas, foram contados os nematóides predados e/ou parasitados, por placas, obtendo-se os percentuais de predação. Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em arco seno da raiz quadrada da porcentagem, conforme recomendação de BARBOSA (2001). Cinco placas foram preparadas como descrito para as observações ao microscópio eletrônico de varredura. Quando foram observados nematóides predados e/ou parasitados nas placas, procedeu-se à fixação em glutaraldeído a 3%, em tampão de fosfato de potássio a 0,05 M e pH 7,4 por 72 horas, a cerca de 5°C. Subseqüentemente, efetuou-se a pós-fixação em

tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão e na mesma temperatura por 12 horas. Então, porções do meio contendo nematóides predados e estruturas do fungo, foram cortados e desidratados em série gradual de álcool etílico e secas em secador de ponto crítico, utilizando-se CO₂, e montadas, metalizadas com 35 nm de ouro, observadas e elétron-micrografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 5410, operado em 15kV (MAIA & SANTOS, 1997).

A predação de *R. reniformis* por *M. robustum*, in vitro, foi de 80,84% nas primeiras 24 horas após a adição dos nematóides às culturas do fungo. Estes valores atingiram 99,16% de predação no período de 48 horas, chegando a 100% no final das avaliações, às 72 horas. O teste F revelou diferença estatística significativa entre os intervalos de avaliação, ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 1). Embora a variável independente seja quantitativa, adequando-se melhor a uma análise de regressão (CHEW, 1976) em vez de um teste de médias, três pontos, apenas, não definem satisfatoriamente uma curva, pelo que se optou pela aplicação do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Constatou-se que, a partir de 48 horas após a adição dos nematóides às culturas do fungo, verificou-se máxima porcentagem de predação, haja vista que a porcentagem de predação, às 48 horas, diferiu estatisticamente de 24 horas e não diferiu de 72 horas. Predação de 85% de juvenis do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) pelo fungo em questão, nas primeiras 24 horas após a adição dos nematóides às culturas (MAIA, 2000). A estrutura de captura formada por *M. robustum* é do tipo ramo adesivo (Figura 1A), conforme a descrição da espécie elaborada por McCULLOCH (1977). Nematóides capturados pelo fungo estão ilustrados na Figura 1B e C. Em 1D, está ilustrado o detalhe da captura de *R. reniformis* pelo fungo.

A elevada patogenicidade de *M. robustum* a *R. reniformis* em laboratório, nas condições em que

Tabela 1 - Porcentagem de predação in vitro de *Rotylenchulus reniformis* por *Monacrosporium robustum* em diferentes intervalos de avaliação.

Tempo após inoculação	Porcentagem de predação
72 h	100,00 a*
48 h	99,16 a
24 h	80,84 b
Teste FDms (5%) CV	77,55** 5,84 5,29

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

**Significativo a 1% de probabilidade.

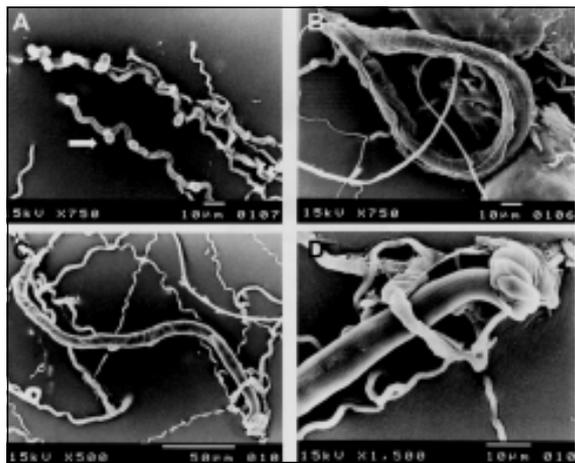


Figura 1 - Elétron-micrografias de varredura de *Monacorsporium robustum*. A) Aspecto das estruturas de captura na forma de ramo adesivo (seta). B e C) Juvenis de segundo estágio (J2) de *Rotylenchulus reniformis* predados. D) Detalhe da estrutura de captura em ação.

foram conduzidas as avaliações, nos permitem concluir que *M. robustum* possui potencial para o controle do nematóide em questão, devendo ser testado em condições mais semelhantes às de campo, pois o fato de o nematóide permanecer no solo durante todo seu ciclo de vida permitiria a ação desse agente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, J.C. **Métodos estatísticos aplicados à entomologia**. Jaboticabal : Universidade Estadual Paulista, Departamento de Ciências Exatas, 2001. 250p.
- BARKER, K.R. **Plant and soil nematodes**. North Carolina : N.C. State University, 1974. 7p.
- BLASINGAME, D. **Annual percentages of beltwide yield losses to nematodes in cotton**. Beltwide Cotton Nematode Survey and Education Committee, 2000. 1p.
- CHEW, V. Comparing treatment means: a compendium. **Horticultural Science**, Calcuta, v.11, n.4, p.348-357, 1976..
- DUNCAN L.W; NOLING, J.W. In: BARKER, K.R.; PEDERSON, G.A.; WINDHAM, G.L. (Ed.). **Plant and nematode interactions**. Madison : American Society of Agronomy, 1998. p.251-288.
- JAFFEE, B.A.; MULDOON, A.E. Suppression of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by alginate pellets containing the nematophagous fungi *Hirsutella rhossiliensis*, *Monacorsporium cionapagum* and *M. elliposporum*. **Biocontrol Science and Technology**, v.7, n.2, p.203-217, 1997.
- JATALA, P. Reniform and false root-knot nematodes, *Rotylenchulus* and *Nacobbus* spp. In: NICLE, W.R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York : Marcel Dekker, 1991. p.509-528.
- KERRY, B.R. Biological control. In: BROWN, R.H.; KERRY, B.R. (Ed.). **Principles and practice of nematode control in crops**. Burnley : Academic, 1987. p.233-262.
- KIRKPATRICK, T.L; ROBBINS, R.T. **Nematodes of cotton in Arkansas**. University of Arkansas, division of agriculture, cooperative extension service. Arkansas, 2000. 4p.
- MAIA, A.S. **Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines***. 2000. 117f. Tese (Doutorado em Agronomia) - UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal.
- MAIA, A.S.; SANTOS, J.M. dos. A SEM technique for preparing biological control agents of nematodes in action. **Acta Microscopica**, v.6.,Suppl.B, p.550-551, 1997.
- McCULLOCH, J.S. New species of nematophagous fungi from Queensland. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.68, n.2, p.173-179, 1977.
- SIVAKUMAR, C.V.; SISHADRI, A.R. Life history of the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira, 1940. **Journal Indian of Nematology**, v.1, n.1, p.7-20, 1971.