

FUNGOS NEMATÓFAGOS DA RIZOSFERA DE HELICÔNIAS COMO POTENCIAIS ANTAGONISTAS À *Rotylenchulus reniformis*

Sheila Matos Viana Soares Almeida¹, Arlete José da Silveira¹, Pedro Luiz Martins Soares², Sérgio José Ribeiro de Oliveira¹, Maria Aparecida Leão Bittencourt¹

¹Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) - Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, 45662-900, Ilhéus, Bahia, Brasil; ²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP)/Departamento de Fitossanidade, 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. arletesilveira@uesc.br.

As helicônias apresentam inflorescências com potencial de comercialização, pois além da beleza de cores e formas, produzem flores em quantidade e têm uma resistência excepcional após o corte. O Brasil, principalmente a região Nordeste, apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento e produção de flores tropicais. Sabe-se que um dos principais problemas que acometem as helicônias são a ocorrência de nematoídeos e fungos. O sucesso econômico e ecológico do manejo dos fitonematoídeos requer a adoção de práticas combinadas, e neste contexto, o controle biológico poderá se constituir numa alternativa viável. Trinta e quatro amostras de solo da rizosfera de *Heliconia* spp. de diversos ecossistemas do sul da Bahia foram processadas para a identificação e isolamento de fungos nematófagos. Foram realizados experimentos *in vitro* com o objetivo de avaliar o potencial dos fungos mais frequentes (*Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *A. oligospora*, *Monacrosporium thaumasium* e *M. eudermatum*) no controle de *Meloidogyne incognita* raça 1. Os mais promissores nos testes *in vitro* (*A. musiformis*, *M. thaumasium* e *A. oligospora*) foram utilizados no experimento em casa de vegetação, onde, *Heliconia richardiana* e *H. rostrata* foram plantadas em solo naturalmente infestado com *Rotylenchulus reniformis* (920 e 612 nematoídeos/100 cm³, respectivamente). Aos 45 dias de aclimatação foi inoculado, nas helicônias, um coquetel preparado com os três fungos mais promissores. Verificou-se que 30 dias após a primeira aplicação houve uma redução populacional significativa ($P < 0,05$) de *R. reniformis* (em solo e raízes) nas duas espécies de helicônias comparado ao tratamento testemunha. A mortalidade de *R. reniformis* após a segunda e terceira aplicação do coquetel não foi significativa para solo e raízes de *H. rostrata*, porém, em *H. richardiana* a redução acentuada de nematoídeos presentes nas raízes ocorreu após a terceira aplicação.

Palavras-chave: controle biológico, nematoíde reniforme, *Heliconia* spp., *Arthrobotrys*, *Monacrosporium*.

Predacious fungi from the rhizosphere of heliconias as potential antagonists to *Rotylenchulus reniformis*. The heliconias have inflorescences with commercial potential, as well as the beauty of colors and forms, produce flowers in quantity and have exceptional strength after harvest. Brazil, especially the Northeast, has favorable conditions for the development and production of tropical flowers. We know that one of the main problems that affect the heliconias are the occurrence of nematodes and fungi. The economic and ecological success of the management of nematodes requires the adoption of combined practice, and in this context, biological control may constitute a viable alternative - four soil samples from the rhizosphere of *Heliconia* spp. diverse ecosystems of southern Bahia were processed for identification and isolation of nematophagous fungi. *In vitro* experiments were conducted with the objective to evaluate the potential of the fungi most frequent (*Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *A. oligospora*, *Monacrosporium thaumasium* and *M. eudermatum*) in the control of *Meloidogyne incognita* race 1. The most promising in vitro tests (*A. musiformis*, *M. thaumasium* and *A. oligospora*) were used in the experiment in a greenhouse, where *Heliconia richardiana* *H. rostrata* planted in soil naturally infested with *Rotylenchulus reniformis* (920 and 612 nematodes/100 cm³, respectively). At 45 days of acclimation was inoculated in heliconias, a cocktail prepared with the three fungi most promising. It was found that 30 days after the first application there was a significant population reduction ($P < 0.05$) of *R. reniformis* (in soil and roots) in the two species of heliconias compared to the control treatment. The mortality of *R. reniformis* after second and third application of the cocktail was not significant for soil and roots of *H. rostrata*, however, in *H. richardiana* the marked reduction of nematodes present in the roots occurred after the third application.

Key words: biological control, reniform nematode, *Heliconia* spp., *Arthrobotrys*, *Monacrosporium*

Introdução

As helicônias são plantas de porte herbáceo, apresentam diversos tamanhos e podem chegar a 10 m de altura. Pertencem à família Heliconiaceae e ao gênero *Heliconia* L., têm origem Neotropical e aparecem naturalmente em clareiras, bordas de florestas e matas ciliares, na América Central e América do Sul (Mosca et al., 2004). A inflorescência apresenta cores e tamanhos variados e pode ser explorado comercialmente, pois além da beleza, produzem flores em quantidade e têm uma boa resistência após a colheita (Lamas, 2004). O Brasil, principalmente a região Nordeste, apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento e produção de flores tropicais, devido à diversidade de clima e solo existentes (Castro et al., 2007). Uma das alternativas econômicas para a região sul da Bahia é o cultivo de flores, folhagens e plantas ornamentais tropicais. Dentre estas, as helicônias cujas inflorescências se destacam por serem rústicas e apresentarem tolerância a doenças, contudo, os fatores ambientais, principalmente as temperaturas elevadas, têm propiciado a ocorrência de epidemias.

O cultivo de helicônia em larga escala por meio de propagação vegetativa (rizomas) e o intercâmbio indiscriminado de germoplasmas, muitas vezes sem a quarentena necessária, causa um desequilíbrio no agroecossistema com ocorrência de pragas e doenças (Assis et al., 2002). As principais pragas desta cultura são cochonilhas, ácaros, nematoides, formigas e pulgões (Santos et al., 2010).

Em levantamento de fitonematoídes associados à Zingiberáceas ornamentais (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm., *Zingiber spectabilis* Griff, *Alpinia purpurata* (Vieillard) K. Schumann, *Musa coccinea* Andrews, *Tapeinochilos ananassae* (Hassk.) K. Schum e *Heliconia* spp.) em áreas produtoras de Pernambuco constatou-se ocorrência frequente dos seguintes gêneros: *Pratylenchus* Taylor, *Rotylenchulus* Linford & Oliveira, *Meloidogyne* Goeldi, *Helicotylenchus* Steiner e *Criconemella* Grisse & Loof. Sintomas da meloidoginose foram constatados em 100% das áreas de plantios. As espécies de *Meloidogyne* detectadas foram *M. incognita* (Kofoid and White) Chitwood, *M. arenaria* Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood (Assis

et al., 2012). Em sete municípios da região litoral Sul do estado da Bahia foram detectados em variedades de helicônias: *Helicotylenchus erythrinae* (Zimmermann) Golden, *H. crenacauda* Sher, *H. dihystera* (Cobb) Sher, *Hemicyclophora* sp., *Meloidogyne incognita*, *Mesocriconema* sp., *Pratylenchus* sp., *Pratylenchus zeae* Graham e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (Mattos Sobrinho et al., 2012).

Rotylenchulus reniformis é um importante patógeno que causa danos significativos a várias culturas de interesse econômico, tais como, soja, algodão (Asmus e Richetti, 2010), entre outras. A ampla faixa de hospedeiros é um fator limitante para a utilização da rotação de culturas como medida de manejo (Soares et al., 2004). Por não existir agrotóxicos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para serem utilizados no controle de pragas e doenças em helicônias, outras táticas devem ser adotadas no manejo, tais como a incorporação de matéria orgânica ao solo, a sanidade do material de propagação, uso de *Azadirachta indica* A. Jussieu (Orsini et al., 2010), além de fungos nematófagos predadores como espécies de *Arthrobotrys* Corda e *Monacrosporium* Oudemans (Silveira, 2000; Silveira et al., 2001; Soares et al., 2009; Martinelli e Santos, 2010) e fungos oportunistas, que têm se mostrado promissores no biocontrole de fitonematoídes pois são parasitos facultativos, o que facilita a multiplicação *in vitro* e a sobrevivência no solo (Ferraz e Santos, 1995) e são os mais frequentes em solos brasileiros.

Os estudos e levantamentos de pragas e doenças na cultura da helicônia na região sul da Bahia são escassos. A expansão do plantio de helicônias e o clima úmido e quente têm favorecido os problemas fitossanitários, destacando-se os fitonematoídes. O presente trabalho teve como objetivos: i) avaliar a atividade predatória *in vitro* de fungos nematófagos isolados da rizosfera de helicônias sobre *Panagrellus redivivus* L. e de *Meloidogyne incognita* raça 1, ii) em condições de casa de vegetação avaliar a potencialidade dos isolados que se mostraram mais promissores sobre *R. reniformis*, em *Heliconia richardiana* Miq. e *H. rostrata* Ruiz e Pavão plantadas em solo naturalmente infestado.

Material e Métodos

Detecção, isolamento e identificação dos fungos nematófagos

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia/Nematologia e em casa de vegetação da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus - BA. O solo foi coletado da rizosfera de helicônias de diversos ecossistemas da região Sul da Bahia. Os fungos foram isolados pelo método de espalhamento de solo, modificado por Santos et al. (1991). Os conídios produzidos em nematoides de vida livre (NVL) *P. redivivus* adicionados às placas foram transferidos para tubos de ensaio contendo BDA e, posteriormente, para placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura.

Após cinco a sete dias de desenvolvimento dos fungos, foram removidos quatro discos de 5 mm de diâmetro dos bordos das colônias, transferindo-os para placas de Petri com ágar-água (AA) a 2%. Cinco dias após, adicionou-se 1 mL de uma suspensão concentrada (cerca de 100 indivíduos/mL) de NVL que foram cultivados em placas de Petri com aveia (Heintz, 1978). Após 10 dias foi constatado que havia nematoides predados. Após esporulação dos fungos, estes foram repicados com o auxílio de um estilete flambado, sob um microscópio estereoscópico e, em câmara de fluxo laminar, transferiram-se esporos individuais dos fungos para tubos de ensaio contendo BDA inclinado. As culturas foram comparadas com as originais. Lâminas foram preparadas com as principais estruturas morfológicas dos fungos e dos NVL predados pelos diferentes tipos de armadilha de captura e observadas sob microscópio estereoscópico e óptico para a identificação das espécies (Haard, 1968; Liu e Zhang, 1994).

Produção de inóculo de *M. incognita* raça 1

Tomateiros (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Santa Cruz Kada foram semeados em bandejas de isopor, com substrato formado de mistura de solo e areia (1:2), previamente autoclavado, e após 15 dias as mudas foram transplantadas para vasos plásticos (6 L) contendo o mesmo tipo de substrato. Dez dias após o tratamento, as mudas foram inoculadas com populações puras de *M. incognita* raça 1 e mantidas em casa de vegetação. Decorridos 45 dias, as raízes

foram removidas e lavadas cuidadosamente, e as massas de ovos foram coletadas sob microscópio estereoscópico e em seguida desinfestadas conforme Boneti e Ferraz (1981). A suspensão de juvenis de segundo estádio (J2) foi obtida pelo método de Cliff e Hirschmann (1985), onde foi colocada em placas de Petri esterilizadas uma tela plástica e, sobre esta, um papel de espessura fina onde foram depositados os ovos, em seguida, foram adicionados 20 mL de água destilada e estéril. Estas placas foram mantidas a temperatura de 28°C por um período de cinco dias. Os J2 obtidos a partir do terceiro dia da eclosão foram utilizados para o teste de patogenicidade. Os juvenis coletados destas câmaras, com auxílio de pipeta de Pasteur foram mantidos em geladeira a 5°C em bêqueres de 100 mL. A calibração final da suspensão com J2 foi ajustada para 100/mL sob microscópio óptico, utilizando-se lâmina de Peters.

Patogenicidade dos fungos nematófagos à *P. redivivus* e *M. incognita* raça 1

Foi utilizado apenas um isolado de cada espécie fúngica predadora mais frequente encontrada na rizosfera de diferentes espécies de helicônia. Portanto, as espécies fúngicas *Arthrobotrys conoides* Drechsler, *A. musiformis* Drechsler, *A. oligospora* Fresenius, *M. thaumassium* Fresenius e *M. eudermatum* (Drechsler) Subramanian foram cultivadas em meio BDA à temperatura de 27°C para o teste de patogenicidade *in vitro*. Dos bordos de cada cultura foram retirados quatro discos (5 mm de diâmetro) e transferidos para placa de Petri com meio AA a 2% em cinco repetições (uma placa por repetição). Após cinco dias de incubação a 27°C adicionaram-se 100 J2 de *M. incognita* raça 1 e mantiveram-se as placas no escuro. A testemunha foi incubada apenas com nematoides. Repetiu-se o mesmo procedimento para os NVL. Os nematoides capturados foram removidos para outra placa com AA a 2% e deles realizados o reisolamento dos fungos infectantes em meio BDA para a comparação com as culturas originais.

O total de J2 de *M. incognita* raça 1 e NVL capturados foram estimados adotando valores cumulativos após 24 h, 48 h, 72 h e 92 h da adição dos mesmos, como descrito anteriormente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, para as

análises estatísticas os dados foram transformados em arc sen ($x/100$). Em seguida foi realizada a ANOVA e o teste de comparação de médias das porcentagens acumuladas de juvenis predados. Para o NVL foi utilizado apenas a variável porcentagem de nematoíde predados, no quarto dia de avaliação.

Efeito do coquetel de fungos predadores no controle de *R. reniformis* em espécies de helicônias

Para os testes em casa de vegetação foram empregadas duas espécies de helicônias (*H. richardiana* e *H. rostrata*), adquiridas em plantio comercial no município de Itabuna, BA. As mudas foram transplantadas em vasos plásticos (10L) tendo como substrato o solo coletado da propriedade. O ambiente na casa de vegetação, com temperatura média de 33°C, é adequado para a cultura e para o desenvolvimento dos nematoídeos. Para obtenção da população inicial dos nematoídeos, estes foram extraídos de amostras de 100 cm³ de solo pelo método de flutuação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins, 1964), e de amostras de 10g de raízes de plantas coletadas antes do transplantio pelo método de Coolen e D'Herde (1972).

As análises prévias em solo e raiz de *H. rostrata* revelaram uma população inicial de 920 *R. reniformis* no solo e 12 nas raízes, em solo e raiz de *H. richardiana* foram encontradas 612 e 20 de *R. reniformis* respectivamente. Outras espécies de nematoídeos foram detectadas nas análises de solo e raízes, porém, em populações muito baixas, por isso, estas foram desconsideradas nesse estudo.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados consistindo-se num esquema bifatorial, com os fatores: Inóculo e Tratamento. Consideraram-se como fator Inóculo: os tempos de aplicação do coquetel a 30, 60 e 90 dias e como Tratamento: 1 com aplicação do coquetel e 2 testemunha com aplicação de água destilada. Cada tratamento foi constituído por cinco plantas em linha, totalizando 20 plantas por bloco por espécie.

Para a preparação do coquetel fúngico utilizado no Tratamento 1, foram escolhidos um isolado de cada espécie que apresentou maior predação nos testes *in vitro*: *Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis* e *M. thaumasium*. Estes foram multiplicados em NVL, no

interior de placas de Petri com AA a 2% (Santos e Ferraz, 2000). Foram adicionados 5 mL de água destilada e esterilizada, em cada placa para recolher os nematoídeos infectados pelos fungos. A suspensão final, para cada fungo, foi ajustada utilizando-se lâmina de contagem de Peters para 300 nematoídeos infectados pelo fungo por mL. Após 45 dias de aclimatação das plantas adicionaram-se 30 mL do coquetel fúngico preparado, sendo 10 mL para cada fungo. Os tratamentos foram aplicados distribuindo-se, com conta gotas, o coquetel para o tratamento 1 e a água destilada para a testemunha (tratamento 2) em depressões de 8 cm próximas as raízes das helicônias. As plantas foram inoculadas novamente 30, 60 e 90 dias após a primeira aplicação. Foi avaliada a população dos nematoídeos após 30 dias, de cada aplicação, retirando-se aleatoriamente três amostras compostas de dez subamostras de solo e raízes das plantas inoculadas. O mesmo procedimento foi realizado para as plantas testemunhas. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em $(x+1)$ ou $\log(x+1)$, conforme a variável, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Detecção, isolamento e identificação dos fungos nematófagos

A partir das análises de 34 amostras de solo, foram obtidos 94 isolados de fungos nematófagos, sendo detectadas espécies dos gêneros *Arthrobotrys* e *Monacrosporium*, todas predadoras por meio de redes tridimensionais adesivas (Tabela 1). Estes fungos crescem em diferentes meios de cultura e, ou substratos facilitando sua utilização e multiplicação em larga escala no biocontrole de fitonematoídes (Soares et al., 2009).

Observou-se também, a ocorrência em duas amostras do fungo endoparasito *Nematoctonus concurrens* Drechsler, estes são considerados parasitos obrigatórios, sendo portanto, de difícil cultivo *in vitro*. Os fungos nematófagos estavam presentes em 100% das amostras analisadas. A predominância de fungos nematófagos encontrados em rizosfera de helicônias corrobora com resultados obtidos por Ribeiro et al. (1999, 2003), Lima (1996), Naves e Campos (1991), em relação aos fungos mais frequentes detectados em solos do Brasil. Em levantamento realizado no sul de

Tabela 1 - Fungos nematófagos detectados e isolados a partir de amostras de solo da rizosfera de helicônias, oriundas da região sul da Bahia, no período de 2006 e 2007

Amostra	Local de coleta	Fungos detectados
01- <i>Heliconia psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 10	<i>Arthrobotrys musiformis</i> e <i>Monacrosporium thaumasi</i>
02- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16	<i>A. musiformis</i> , <i>M. megalospora</i> e <i>A. conoides</i>
03- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16	<i>A. conoides</i> e <i>M. megalospora</i>
04- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16	<i>A. musiformis</i> e <i>M. thaumasi</i>
05- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16	<i>A. musiformis</i> e <i>M. thaumasi</i>
06- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16	<i>A. musiformis</i> , <i>M. megalospora</i> , <i>M. thaumasi</i> e <i>M. eudermatum</i>
07- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 18	<i>A. musiformis</i> e <i>M. thaumasi</i>
08- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 18	<i>A. oligospora</i> , <i>A. musiformis</i> e <i>M. eudermatum</i>
09- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 21	<i>M. thaumasi</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>A. musiformis</i>
10- <i>H. psittacorum</i>	Rodovia Ilhéus-Itabuna km 21	<i>M. eudermatum</i> , <i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
11- <i>H. rostrata</i>	Ecoparque – Una	<i>M. thaumasi</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>A. musiformis</i>
12- <i>H. richardiana</i>	Ecoparque – Una	<i>A. musiformis</i> , <i>M. eudermatum</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>A. conoides</i>
13- <i>H. richardiana</i>	Ecoparque – Una	<i>A. musiformis</i> e <i>M. megalospora</i>
14- <i>H. richardiana</i>	Ecoparque – Una	<i>M. thaumasi</i> , <i>A. musiformis</i> e <i>M. megalospora</i>
15- <i>H. rostrata</i>	Ecoparque – Una	<i>M. thaumasi</i> , <i>A. musiformis</i> , <i>A. conoides</i> e <i>Nematoctonus concurrens</i>
16- <i>H. richardiana</i>	Ecoparque – Una	<i>M. megalospora</i> , <i>A. musiformis</i> e <i>A. conoides</i>
17- <i>Heliconia</i> sp.	Ecoparque – Una	<i>A. musiformis</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>A. conoides</i>
18- <i>H. rostrata</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>M. thaumasi</i> , <i>M. eudermatum</i> , <i>A. oligospora</i> e <i>A. musiformis</i>
19- <i>H. bihai</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>M. thaumasi</i> , <i>Arthrobotrys</i> sp., <i>A. musiformis</i> e <i>A. conoides</i>
20- <i>H. bihai</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>A. conoides</i> e <i>A. musiformis</i>
21- <i>H. rostrata</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>A. musiformis</i> , <i>M. eudermatum</i> e <i>A. conoides</i>
22- <i>H. psittacorum</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>M. thaumasi</i> e <i>A. musiformis</i>
23- <i>H. rostrata</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>M. thaumasi</i> e <i>A. musiformis</i>
24- <i>H. psittacorum</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>A. conoides</i> , <i>M. eudermatum</i> e <i>A. musiformis</i>
25- <i>H. psittacorum</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
26- <i>H. psittacorum</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>Monacrosporium</i> sp., <i>A. oligospora</i> e <i>A. musiformis</i>
27- <i>H. psittacorum</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>Monacrosporium</i> sp., <i>Arthrobotrys</i> sp., <i>M. thaumasi</i> e <i>A. musiformis</i>
28- <i>H. rostrata</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>A. oligospora</i> e <i>A. musiformis</i>
29- <i>H. spathocircinata</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>A. musiformis</i> e <i>A. oligospora</i>
30- <i>H. psittacorum</i>	Fazenda Boa Lembrança - Ilhéus	<i>A. conoides</i> e <i>A. musiformis</i>
31- <i>H. spathocircinata</i>	Faz. Conquistadora Rod. Ilhéus-Itabuna	<i>M. thaumasi</i> e <i>A. musiformis</i>
32- <i>H. pendula</i>	Faz. Conquistadora Rod. Ilhéus-Itabuna	<i>Monacrosporium</i> sp., <i>A. musiformis</i> e <i>M. eudermatum</i>
33- <i>H. pendula</i>	Faz. Conquistadora Rod. Ilhéus-Itabuna	<i>Nematoctonus concurrens</i> , <i>A. musiformis</i> e <i>Monacrosporium</i> sp.
34- <i>H. psittacorum</i>	Faz. Conquistadora Rod. Ilhéus-Itabuna	<i>A. javanica</i> , <i>Monacrosporium</i> sp. e <i>A. musiformis</i>

Minas Gerais encontraram apenas espécies de *Arthrobotrys*, sendo que todas formavam redes adesivas como estruturas de captura (Naves e Campos, 1991). Dentre os isolados de *Arthrobotrys* detectados em vários municípios brasileiros, 87% deles eram formadores de redes adesivas tridimensionais (Lima, 1996) e espécies do gênero *Monacrosporium* apresentaram ampla distribuição em solos brasileiros e 92% dos isolados detectados, também, formavam redes

adesivas (Ribeiro et al., 1999). Em 22 amostras de solos de bananais analisadas, foram obtidos 16 isolados fúngicos pertencendo aos gêneros *Arthrobotrys* e *Monacrosporium* (Ribeiro et al., 2003).

Foram encontradas 34 cepas de *A. musiformis*, 11 de *A. conoides*, 11 de *A. oligospora*, uma de *A. javanica*, duas de *Arthrobotrys* sp., 15 de *M. thaumasi*, oito de *M. eudermatum*, seis de *M. megalospora* e quatro de *Monacrosporium* sp.,

fungos ectoparasitos (Tabela 1). Foi isolado, em duas amostras, o fungo *N. concurrens* que, por se tratar de um endoparasita foi preservado em placa de Petri com AA a 2% e adição de NVL. A predominância de fungos ectoparasitos encontrada no levantamento pode ser devido à sua maior capacidade saprofítica, podendo-se nutrir de outras fontes na ausência de nematoídeos, facilitando a sobrevivência no solo (Ferraz e Santos, 1995).

Dentre os ectoparasitos, *A. musiformis* foi o mais frequente, presente em 35% das amostras. *A. oligospora* foi detectado em 11,6% das amostras. Mundialmente este fungo é o mais frequentemente detectado em amostras de solos (Olsson e Persson, 1994). Não se tem resposta, ainda, da relação entre ocorrência, origem e distribuição das espécies de *Arthrobotrys* isoladas de diferentes localidades brasileiras e de diferentes culturas (Oliveira et al., 2002).

Patogenicidade dos fungos à *P. redivivus* e *M. incognita* raça 1

Os testes *in vitro* evidenciaram que os fungos *A. musiformis*, *M. thaumasium* e *A. oligospora*, que produzem redes adesivas como estruturas de captura, foram os mais efetivos no controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 causando mortalidade de 90,4%, 77% e 73,2%, respectivamente. Fungos que possuem esse tipo de estratégia de captura aderem facilmente ao nematoíde, promovendo a relação de parasitismo, podendo ser considerados mais eficientes nessa captura, além disso, esses fungos são capazes de crescerem rapidamente em meio de cultura e são facilmente isolados (Araújo et al., 1999). Segundo Drechsler (1937) após a apreensão do nematoíde sua cutícula é rompida e há a penetração da hifa, a partir

daí o fungo é capaz de absorver todo conteúdo do nematoíde. O fungo *A. conoides* apresentou uma porcentagem de predação mais baixa (44,3%), quando comparado à maioria dos isolados e, *M. eudermatum* de 4,4% (Tabela 2). Estes organismos apresentam a capacidade de capturar, matar ou digerir os nematoídeos (Lopes et al., 2007). Contudo, ocorre especificidade de natureza bioquímica entre os fungos e os nematoídeos. Se houver reconhecimento entre as lecitinas das armadilhas de captura do fungo e açúcares presentes na cutícula do nematoíde, pode ser estabelecida a relação de parasitismo (Nordbring-Hertz, 1972). Diferenças na capacidade predatória entre isolados de uma mesma espécie de *Arthrobotrys* às juvenis de *Meloidogyne* sp., também foram observadas por Araujo et al. (1993) e, entre isolados de *M. thaumasium*, *M. sinense* Xing Z. Liu e K.Q. Zhang e *M. appendiculatum* (Mekht.) Xing Z. Liu e K.Q. Zhang à J2 de *M. incognita* raça 3 (Gomes et al., 1999).

Entre os fungos testados a porcentagem de predação de *P. redivivus* variou de 83,0% a 99,4% (Tabela 2). Em testes *in vitro* realizados por Putzke et al. (2007) ocorreu 97,0% de predação por fungos nematófagos, entre outros. Este nematoíde tem sido usado como “isca” em testes de laboratório (Soares, 2006) e relatado como mais suscetível que *M. incognita* por diferentes espécies de *Monacrosporium* e de *Arthrobotrys* (Gomes et al., 2000).

Para *M. incognita* raça 1, no primeiro período de avaliação, não houve diferença significativa entre os fungos testados ($P < 0,05$) (Tabela 3). Este resultado está de acordo com os dados de Silveira (2000), quanto à patogenicidade *in vitro* de J2 de *M. incognita* por 11 fungos nematófagos.

Tabela 2 - Capacidade predatória média de espécies fúngicas mais frequentes, encontradas na rizosfera de *Heliconia* spp.

Espécie fúngica	Porcentagem de nematoíde predados em quatro dias	
	<i>Panagrellus redivivus</i>	<i>Meloidogyne incognita</i> raça 1
<i>Monacrosporium eudermatum</i>	83,0	4,4
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	97,8	73,2
<i>A. musiformis</i>	99,4	90,4
<i>A. conoides</i>	99,0	44,3
<i>M. thaumasium</i>	99,0	77,0
Testemunha	0,8	3,8

Testemunha: sem adição de fungo.

Tabela 3 - Porcentagem de *Meloidogyne incognita* raça 1 predados *in vitro* por espécies de *Monacrosporium* e *Arthrobotrys* entre os períodos de tempo avaliados para cada espécie fúngica testada

Tempo em horas	Testemunha	<i>M. thaumasium</i>	<i>A. musiformis</i>	<i>A. oligospora</i>	<i>A. conoides</i>	<i>M. eudermatum</i>
24	0,00 a ¹	0,00 a	0,60 a	0,00 a	0,00 a	0,20 a
48	0,60 a	19,20 b	52,00 a	24,00 c	17,20 b	0,40 c
72	1,60 a	48,80 a,b	76,80 a,b	37,00 a,b	37,80 b	2,80 c
96	3,80 a	77,00 a	90,40 b	73,20 a	44,30 b,c	4,40 c

¹Médias não transformadas seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade CV(%) = 15,59.

Monacrosporium eudermatum apresentou a menor porcentagem de parasitismo nos quatro dias de avaliação, às juvenis de *M. incognita* raça 1, em relação aos demais fungos, não diferindo da testemunha. Os demais fungos diferiram da testemunha a partir do segundo dia de avaliação. *Monacrosporium thaumasium* não diferiu de *A. musiformis* e *A. oligospora* em 72 horas de avaliação. *Arthrobotrys musiformis* obteve uma predação de 52%, no segundo dia de avaliação, apresentando a maior porcentagem de predação e, *A. conoides* a menor, nos períodos avaliados (Tabela 3). Foi observado que após uma aplicação da mistura de *A. musiformis* e *A. oligospora* antes do transplantio de mudas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) cv. Elisa em solo infestado por *M. incognita* resultou em melhor desenvolvimento das plantas (Soares, 2006).

Efeito do coquetel de fungos predadores no controle de *R. reniformis* em espécies de helicônia

Nos ensaios em casa de vegetação com *H. rostrata* e *H. richardiana* plantadas em solo naturalmente infestado ocorreram reduções significativas ($P < 0,05$) na população inicial de *R. reniformis* no solo e nas raízes para as duas espécies, 30 dias após a aplicação do tratamento 1 (coquetel com *A. musiformis*, *A. oligospora* e *M. thaumasium*), em relação ao tratamento 2 (testemunha com adição de água destilada) (Tabelas 4 e 5). *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Monacrosporium* spp. são fungos abundantes nos solos, de fácil cultivo em meios de cultura elaborados com produtos tais como sementes e grãos ou subprodutos da agroindústria e podem ser fortes aliados no manejo de nematoídeos em cultivos de hortifrutigranjeiros e de ornamentais. Quando um coquetel de cinco fungos nematófagos (*A. oligospora*,

A. musiformis, *Dactylela leptospora*, *M. robustum* e *Paecilomyces lilacinus* produzidos em um preparado especial de arroz foi testado em larga escala em crisântemo de corte em estufas, altamente infestadas por *M. javanica*, os fungos exibiram eficácia no controle do nematoide. Na área tratada com os fungos, rendeu flores com hastes de melhor qualidade e maior tamanho e diâmetro (Soares, 2006). Bionematicidas foram formulados pela indústria e aplicados no controle de fitonematoídeos, como o Royal 300® e Royal 350® desenvolvidos na França, porém estes foram considerados de baixa eficácia e por isso seu uso foi descontinuado. Pesquisas indicaram uma boa redução na população de nematoídeos em ambientes controlados, como em casa de vegetação, porém quando estes foram utilizados em áreas abertas esse índice diminui, provavelmente por fatores bióticos e abióticos relacionados (Cayrol et al., 1978; Cayrol e Frankowski, 1979).

A mortalidade de *R. reniformis* após a segunda e terceira aplicação do coquetel não foi significativa para solo e raízes de *H. rostrata*, porém, em *H. richardiana* a terceira aplicação do coquetel obteve uma redução mais acentuada da população do nematoide nas raízes, mesmo não sendo esta significativa (Tabela 5). Não ocorreu aumento da população de nematoídeos no tratamento 1 (solo e raízes) nas duas espécies de helicônias.

A redução significativa obtida 30 dias após a aplicação da mistura fúngica no solo das helicônias pode ser explicado pelo ciclo de vida do nematoide reniforme em que os juvenis de 2°, 3° e 4° estádios e os machos não são infectivos encontrando-se livres no solo (Sivakumar e Sishadre, 1971), facilitando, dessa maneira, a ação dos fungos predadores. Além de tratarse de um nematoide de hábito semi-endoparasito sedentário ficando mais vulnerável à ação de agentes

Tabela 4 - População de *Rotylenchulus reniformis* presentes no solo e nas raízes de *Heliconia rostrata*, após 30, 60 e 90 dias de reinoculação, em casa de vegetação

	Solo				Raiz			
	RIn0 ²	RIn30 ²	RIn60 ²	RIn90 ²	RIn0 ²	RIn30 ²	RIn60 ²	RIn90 ²
Tratamento 1 ¹	30,043 a ³	4,823 b	3,902 b	2,230 b	24,425 a	3,363 b	2,426 b	2,426 b
Tratamento 2 ¹	30,043 a	29,176 a	29,223 a	29,266 a	24,425 a	22,670 a	23,457 a	24,453 a

¹Tratamento 1: aplicação do coquetel; Tratamento 2: testemunha só com água destilada. ²RIn0: população de *R. reniformis* sem Inocular; RIn30: população de *R. reniformis* 30 dias após a primeira Inoculação; RIn60: população de *R. reniformis* 30 dias após a segunda Inoculação e RIn90: população de *R. reniformis* 30 dias após a terceira Inoculação. ³Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%. CV Solo = 4,30%; CV Raiz = 23,11%.

Tabela 5 - Efeito do coquetel fúngico sobre a população de *Rotylenchulus reniformis* presentes no solo e nas raízes de *Heliconia richardiana*, após 30, 60 e 90 dias de reinoculação, em casa de vegetação

	Solo				Raiz			
	RIn0 ²	RIn30 ²	RIn60 ²	RIn90 ²	RIn0 ²	RIn30 ²	RIn60 ²	RIn90 ²
Tratamento 1 ¹	14,0596 a ³	3,1516 b	3,0065 b	0,9428 b	4,0597 a	3,1516 b	3,0065 b	0,9428 b
Tratamento 2 ¹	14,0596 a	15,8096 a	15,7063 a	16,1515 a	4,6872 a	4,4305 a	4,4253 a	4,5379 a

¹Tratamento 1: aplicação do coquetel; Tratamento 2: testemunha só com água destilada. ²RIn0: população de *R. reniformis* sem Inocular; RIn30: população de *R. reniformis* 30 dias após a primeira Inoculação; RIn60: população de *R. reniformis* 30 dias após a segunda Inoculação e RIn90: população de *R. reniformis* 30 dias após a terceira Inoculação. ³Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%. CV Solo = 6,44%; CV Raiz = 27,98%.

do controle biológico do que as espécies de hábito endoparasita (Duncan e Noling, 1998).

Os dados obtidos nos ensaios em relação à redução populacional de *R. reniformis*, utilizando-se fungos nematófagos também foi constatada por Soares (2006) onde avaliaram a eficácia de *A. musiformis* e *A. oligospora* à *M. incognita* e *R. reniformis* em cultivo de alface, em estufa. Castillo et al. (2010) observaram redução significativa de *R. reniformis* pela ação de *Drechslera dactyloides* Drechsler, *D. brochopaga* (Drechsler) M. Scholler, Hagedorn e A. Rubner e *P. lilacinus*, em casa de vegetação.

Não foram observadas diferenças populacionais após a segunda e terceira aplicação do coquetel fúngico, embora há relato que aplicações sucessivas de fungos nematófagos favorecem a ação desses microrganismos para que eles atuem na redução populacional dos nematoides (Campos e Campos, 1997). A utilização de formulações de fungos nematófagos pode vir a ser o recurso mais adequado para o manejo de nematoides em hortaliças produzidas em volta dos centros urbanos, assim como em parques e jardins (Soares, 2006). Também não foi constatado o aumento da população do *R. reniformis* nas plantas

testemunhas, provavelmente, pela presença de outros antagonistas presentes no solo naturalmente infestado.

Conclusões

Em condições de casa de vegetação, a adição do coquetel fúngico (*Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Monacrosporium thaumasium*) reduz significativamente a poluição de *Rotylenchulus reniformis* em solo cultivado com *Heliconia richardiana* e *H. rostrata*.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de estudo durante o curso de mestrado do primeiro autor, a Luciano Ramos de Lima pelo fornecimento das mudas de helicônia.

Literatura Citada

ARAÚJO, J. V. et al. 1993. Antagonistic effect of predacious *Arthrobotrys* fungi on effective

- Haemonchus placei* larvae. Journal of Helminthology 67:136-138.
- ARAÚJO, J. V.; STEPHANO, M. A.; SAMPAIO, W. M. 1999. Passage of nematode trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. Veterinarski arhiv 69(2):69-78.
- ASMUS, G. L.; RICCHETTI, A. 2010. Rotação de culturas para o manejo do nematoide reniforme em algodoeiro. Dourados, MS. Embrapa Agropecuária Oeste. Boletim Técnico. 28p.
- ASSIS, S. M. P. et al. 2002. Doenças e Pragas das Helicônias. Recife, PE, UFRPE. 102p.
- ASSIS, T. C. de. et al. 2012. Fitonematoídes associados à Zingiberales tropicais e estimativas do número de amostras para monitoramento. Pesquisa Agropecuária Pernambucana 17(1):83-89.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6:553.
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P. 1997. Efeito da época e forma de aplicação dos fungos *Arthrobotrys conoides*, *Arthrobotrys musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium chlamydosporium* no controle de *Meloidogyne exigua* no cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 22:261-265.
- CASTILLO, J. D. et al. 2010. Evaluation of *Drechslerella dactyloides*, *Drechslerella brochopaga* and *Paecilomyces lilacinus* for biocontrol of *Rotylenchulus reniformis*. Nematropica 40:71-85.
- CASTRO, A. C. R. et al. 2007. Hastes florais de helicônia sob deficiência de macronutrientes. Pesquisa Agropecuária Brasileira 42(9):1299-1306.
- CAYROL, J.C., FRANKOWSKI, J. P. 1979. Une méthode de lutte biologique contre les nématodes à galles des racines appartenant au genre *Meloidogyne*. Revue Horticole 193:15-23.
- CAYROL, J.C. et al. 1978. Contre les nématodes en champignonnière. Mise au point d'une méthode de lutte biologique à l'aide d'un hypomycète prédateur: *Arthrobotrys robusta* souche antipolis (Royal300). Revue Horticole 184:23-30.
- CLIFF, G. M.; HIRSCHMANN, H. H. 1985. Evaluation of morphological variability in *Meloidogyne arenaria*. Journal of Nematology 17(4):445 - 449.
- COOLEN, W.A.; D'HERDE, C. J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from tissue. State Agricultural Reserch Center. 77p.
- DRECHSLER, C. S. 1937. Hyphomycetes that prey on free-living terricolous nematodes. Mycologia 29:447-552.
- DUNCAN, L.W.; NOLING J.W. 1998. Plant and nematode interactions. In: Barker, K. R. et al. Agricultural sustainability and nematode integrated pest management. Madison American Society of Agronomy. pp.251-288.
- FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. 1995. Controle biológico de fitonematoídes pelo uso de fungos. Revisão Anual de Patologia de Plantas (Brasil) 3:283-314.
- GOMES, A. P. S.; ARAÚJO, J. V.; RIBEIRO, R. C. F. 1999. Differential *in vitro* pathogenicity of predatory fungi of the genus *Monacrosporium* for phytonematoídes, free-living nematodes and parasitic nematodes of cattle. Brazilian Journal of Medicine and Biological Research 32(1):79-83.
- GOMES, A. P. S. et al. 2000. *In vitro* activity of brazilian strains of the predatory fungi *Arthrobotrys* spp. on free-living nematodes and infective larvae of *Haemonchus placei*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 95: 873-876.
- HAARD, K. 1968. Taxonomic studies on the genus *Arthrobotrys* Corda. Mycology 60:140-1159.
- HEINTZ, C. E. 1978. Assessing the predacity of nematode-trapping fungi *in vitro*. Micology 70:1088-1100.
- JENKINS, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48:692.
- LAMAS, A. M. 2004. Flores: produção, pós-colheita e mercado. Fortaleza, CE, Instituto Frutal. 109p.
- LIMA, R. D. 1996. Caracterização de isolados e avaliação da patogenicidade de *Arthrobotrys* spp. a fitonematoídes. Tese Doutorado. Viçosa, MG, UFV. 88p.
- LIU, X. Z.; ZHANG K. Q. 1994. Nematode-trapping species of *Monacrosporium* with special reference to two new species. Mycological Research 98: 862-868.
- LOPES, E. A. et al. 2007. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. Nematologia Brasileira 31(2):78-84.

- MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M. 2010. Scanning electron microscopy of nematophagous fungi associated *Tylenchulus semipenetrans* and *Pratylenchus jaehni*. *Bioscience Journal* 26(5): 809-816.
- MATTOS SOBRINHO, C. C. de, et al. 2012. Fitonematoides associados à *Heliconia* spp. em cultivos comerciais no litoral sul da Bahia, Brasil. *Nematropica* 42(2):349-353.
- MOSCA, J. L. et al. 2004. *Heliconia*: descrição, colheita e pós-colheita. Fortaleza, CE, Embrapa Agroindústria Tropical. 32p.
- NAVES, R. L.; CAMPOS, V. P. 1991. Ocorrência de fungos predadores de nematoides no sul de Minas Gerais e estudo da capacidade predatória e crescimento "in vitro" de alguns de seus isolados. *Nematologia Brasileira* 15(2):152-162.
- NORDBRING-HERTZ, B. 1972. Scanning electron microscopy of the nematode-trapping organs in *Arthrobotrys oligospora*. *Physiologia Plantarum* 26:279-284.
- OLIVEIRA, R. D. L. et al. 2002. Caracterização morfológica e isoenzimática de espécies de *Arthrobotrys oligospora* no Brasil. *Nematologia Brasileira* 26(2):181-197.
- OLSSON, S.; PERSSON, Y. 1994. Transfer of phosphorus from *Rhizoctonia* to the mycoparasite *Arthrobotrys oligospora*. *Mycological Research* 98:1065-1068.
- ORSINI, I. P. et al. 2010. Flutuação populacional de nematoides em duas épocas de avaliação em solos cultivados com cana-de-açúcar sob diferentes manejos. *Nematologia Brasileira* 34(3): 159-163.
- PUTZKE, M. T. L. et al. 2007. Taxonomia e importância das espécies de *Hohenbuehelia*, *Resupinatus* e *Pleurotus* no controle de *Meloidogyne javanica*. *Caderno de Pesquisa* 19:38-81.
- RIBEIRO, R. C. F. et al. 1999. Levantamento de espécies de *Monacrosporium* predadoras de nematoides em diversas regiões brasileiras. *Nematologia Brasileira* 23(1):40-47.
- RIBEIRO, R. C. F. et al. 2003. Ocorrência de fungos predadores de nematoides sob solos de bananais no Norte de Minas Gerais. *UNIMONTES Científica* 5(1):1-8.
- SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. 2000. Eficiência de cinco isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne* spp. ao longo de três cultivos sucessivos. *Nematologia Brasileira* 24(2):193- 201.
- SANTOS, M. A.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. J. 1991. Detection and ecology of nematophagous fungi from brazilian soil. *Nematologia Brasileira* 15(2): 121-134.
- SANTOS, R. M. V. et al. 2010. Ácaros (Arachnida: Acari) associados a plantas ornamentais tropicais na região litoral sul da Bahia. *Arquivo do Instituto Biológico (Brasil)* 77: 45-48.
- SILVEIRA, A. J. 2000. Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*. Tese Doutorado. Jaboticabal, SP, UNESP/FCAVJ. 117p.
- SILVEIRA, A. J.; SANTOS, J. M.; DI MAURO, A.O. 2001. Estudo *in vitro* da habilidade predatória de *Monacrosporium robustum* sobre *Heterodera glycines*. *Fitopatologia Brasileira* 26 (4):732 - 736.
- SIVAKUMAR, C. V.; SISHADRI, A. R. 1971. Life history of the reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira, 1940. *Journal Indian of Nematology* 1:7-20.
- SOARES, P. L. M. 2006. Estudo do controle biológico de fitonematoides com fungos nematófagos. Tese Doutorado. Jaboticabal, SP, UNESP/FCAVJ. 217p.
- SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M.; LEHMAN, P. S. 2004. Estudo morfométrico comparativo de populações de *Rotylenchulus reniformis* (Nemata: Rotylenchulinae) do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 28(3):292-297.
- SOARES, P. L. M. et al. 2009. Crescimento e esporulação de duas espécies de *Arthrobotrys* Corda em diferentes meios de cultura e dois ambientes. *Bioscience Journal* 25(2):63-74.