

FILTRADOS FÚNGICOS COM AÇÃO TÓXICA SOBRE *Meloidogyne exigua*

OLIVEIRA, D.F.¹; CAMPOS, V.P.¹; AMARAL, D.R.¹ e SILVA, G.H.¹

¹ Universidade Federal de Lavras, C.P. 37, 37200-000, Lavras-MG; <denilson@ufla.br>

RESUMO: Os fitonematóides representam um dos maiores problemas fitossanitários para a cultura do café no Brasil, o que torna consideravelmente alta a demanda por novas metodologias de controle desses fitoparasitas nos cafezais. Uma possibilidade promissora para satisfazer essa necessidade consiste no uso de fungos produtores de substâncias tóxicas a fitonematóides. Assim, para identificar aqueles com potencial para serem empregados no controle de *Meloidogyne exigua*, que é um fitonematóide de ampla distribuição nos cafezais brasileiros, 17 isolados fúngicos foram cultivados em meio filtrado Czapek-Dox durante 15 dias, a 27 °C. Após filtração das misturas resultantes em papel-filtro, submeteram-se os líquidos obtidos a testes *in vitro* de motilidade e de mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. exigua*. A maior parte dos filtrados fúngicos avaliados teve algum efeito tóxico sobre *M. exigua*, sendo os melhores resultados obtidos com *Paecilomyces variotii*, que apresentou valores próximos de 100% tanto para J2 imóveis quanto para J2 mortos.

Palavras-chave: fungos, *Meloidogyne exigua*, testes *in vitro*.

FUNGAL FILTRATES WITH TOXIC EFFECTS ON *Meloidogyne exigua*

ABSTRACT: In order to identify fungi producing toxic substances to the nematode *Meloidogyne exigua*, 17 fungi isolates were grown in Czapek-Dox liquid medium during 15 days, at 27 °C. After filtration of the final mixture through a paper filter, the liquids obtained were used against *M. exigua* second stage juveniles (J2) in mobility and mortality *in vitro* assays. The best results were obtained with *Paecilomyces variotii*, that presented values near 100% for both immobile and dead J2 .

Key words: fungi, *Meloidogyne exigua*, *in vitro* assays.

INTRODUÇÃO

Nematóides são organismos filiformes, que utilizam fontes variadas de nutrientes. Aqueles que se alimentam de plantas são conhecidos como fitonematóides, os quais podem causar grandes perdas na produção agrícola (Campos, 1992). Uma das medidas de controle desses fitoparasitas consiste no emprego de substâncias nematicidas, que normalmente são resultantes da indústria petroquímica (Campos, 1997). Esses nematicidas contaminam águas subterrâneas, intoxicam o aplicador e deixam resíduos nos alimentos, o que torna altamente atraente a possibilidade de uso futuro de metodologias menos tóxicas ao homem e de menor impacto sobre o ambiente. Para isso, uma alternativa consiste no uso de fungos produtores de metabólitos tóxicos aos fitonematóides (Mankau, 1979), o que pode ser exemplificado com o fungo *Omphalotin olearius*, do qual foi isolada a onfalotina A (Figura 1). Em testes *in vitro*, essa substância é capaz de causar 50% de mortalidade de *Meloidogyne incognita* em uma hora, na concentração de 2 ppm (Mayer et al., 1999).

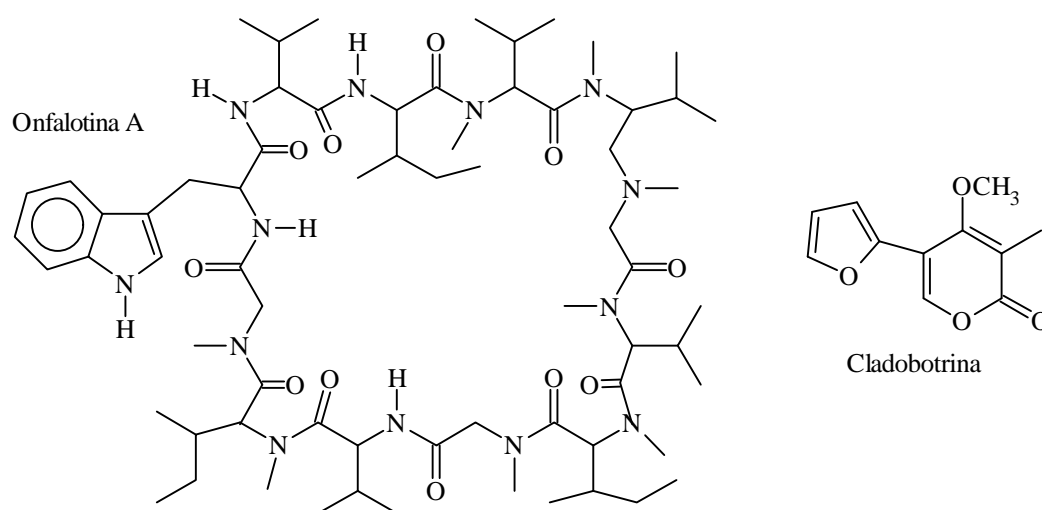


Figura 1 - Estruturas de substâncias nematicidas isoladas de fungos.

Também pode ser citada a substância cladobotrina (Figura 1), cuja DL_{50} para *M. incognita* é da ordem de 100 ppm. Ela foi isolada a partir do cultivo do fungo *Cladobotryum rubrobrunescens* em meio de cultura YMG (Wagner et. al., 1998).

Em decorrência do exposto, este trabalho teve como objetivo identificar fungos produtores de substâncias tóxicas a fitonematóides para emprego no controle de *M. exigua* em cafeeiros, já que este fitoparasita apresenta ampla distribuição nos cafezais brasileiros.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de filtrados fúngicos. Fungos armazenados no Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Lavras foram inoculados em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. Após sete dias a 27 °C, removeram-se discos de 5 mm dessas culturas, para inoculá-las em frascos contendo o meio líquido Czapek-Dox. Depois de 15 dias a 25 °C, sob agitação constante, obteve-se uma mistura que foi filtrada em papel-filtro para dar origem a um líquido, denominado filtrado fúngico, que foi mantido sob refrigeração até o momento de sua utilização.

Obtenção de ovos e de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. exigua*. Raízes de cafeeiros infestadas por *M. exigua* foram colhidas e tiveram as galhas seccionadas. Estas foram trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio 0,5%, conforme técnica descrita por Hussey e Barker (1973). Parte dos ovos obtidos foram colocados em câmara de eclosão, da qual selecionaram-se apenas J2 com 48 horas. Assim, formaram-se duas suspensões: uma com 250 ovos/mL e outra com 500 J2/ mL de água.

Testes *in vitro* de extratos vegetais sobre a motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. exigua*. Dez mL de filtrado fúngico e 2 mL de suspensão de J2 foram colocados em placas de Petri de 5 cm de diâmetro. Cada placa constituiu uma unidade experimental, repetida seis vezes. Avaliaram-se 17 filtrados fúngicos, além de duas testemunhas: 1) com 10 mL de água e 2) com 10 mL de solução aquosa do nematicida Aldicarb a 150 ppm. O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado. Doze e vinte e quatro horas após a exposição de J2 aos filtrados fúngicos, contaram-se os J2 que não apresentavam mobilidade para calcular a percentagem de inativação. A seguir, os filtrados fúngicos foram substituídos por água e, passadas mais vinte e quatro horas, contaram-se os J2 imóveis, os quais foram considerados mortos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado na Figura 2, os filtrados dos fungos *Arthrobotrys conoides*, *A. oligospora*, *A. superba*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Mortierella* sp. e *Trichoderma viridae* apresentaram percentagens de J2 imóveis estatisticamente idênticas aos da testemunha água, o que sugere que não têm qualquer efeito tóxico de *M. exigua*. Quanto aos outros fungos, *Conyothyrium sporulorum*, *Fusarium moniliforme*, *Monacrosporium doedyoides*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium* sp. e *Sclerotinea sclerotiorum* apresentaram valores de J2 imóveis na faixa de 20 a 40%; *Fusarium solani*

imobilizou algo entre 70 e 80% dos J2; e *Fusarium* sp., *Paecilomyces variotii* e *Verticillium chlamydosporium*, que forneceram os melhores resultados, imobilizaram quase todos os J2.

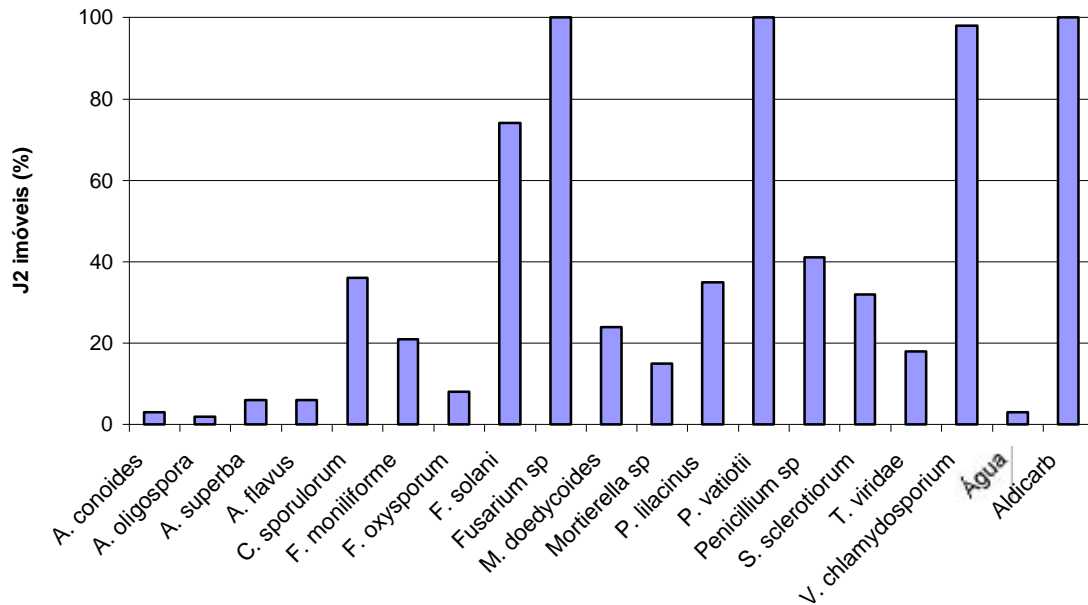


Figura 2 - Motilidade de J2 de *M. exigua* tratados com filtrados fúngicos durante 12 horas.

De forma análoga ao observado durante o teste de motilidade (Figura 2), a mortalidade dos J2 tratados com os filtrados de *A. rthrobotrys conoides*, *A. oligospora*, *A. superba*, *A. flavus*, *Mortierella* sp. e *T. viridae* foi estatisticamente idêntica a daqueles tratados com água, o que confirma a falta de atividade dessas espécies sobre *M. exigua* (Figura 3). No entanto, para o filtrado de *F. oxysporum*, que não mostrou efeito no teste de motilidade (Figura 2), a mortalidade ficou entre 40 e 50% (Figura 3).

De forma relativamente análoga, os filtrados de *C. sporulorum*, *F. moniliforme*, *Fusarium* sp., *M. doedycoides*, *Penicillium* sp. e *S. sclerotiorum*, que apresentaram valores superiores ao da água no teste de motilidade de J2 (Figura 2), no de mortalidade tiveram percentagens de J2 mortos estatisticamente iguais ao da água (Figura 3). Os únicos filtrados que apresentaram resultados análogos para ambos os testes foram os de *P. lilacinus* e *P. variotii*, com percentagens de J2 mortos próximas de 40% e de 100%, respectivamente.

Esses resultados deixam evidente que não é possível fazer uma correlação entre os testes de motilidade e de mortalidade de J2 de *M. exigua* para filtrados fúngicos, o que está de acordo com o observado por Costa (2000), que submeteu J2 de *M. incognita* a condições semelhantes às relatadas aqui.

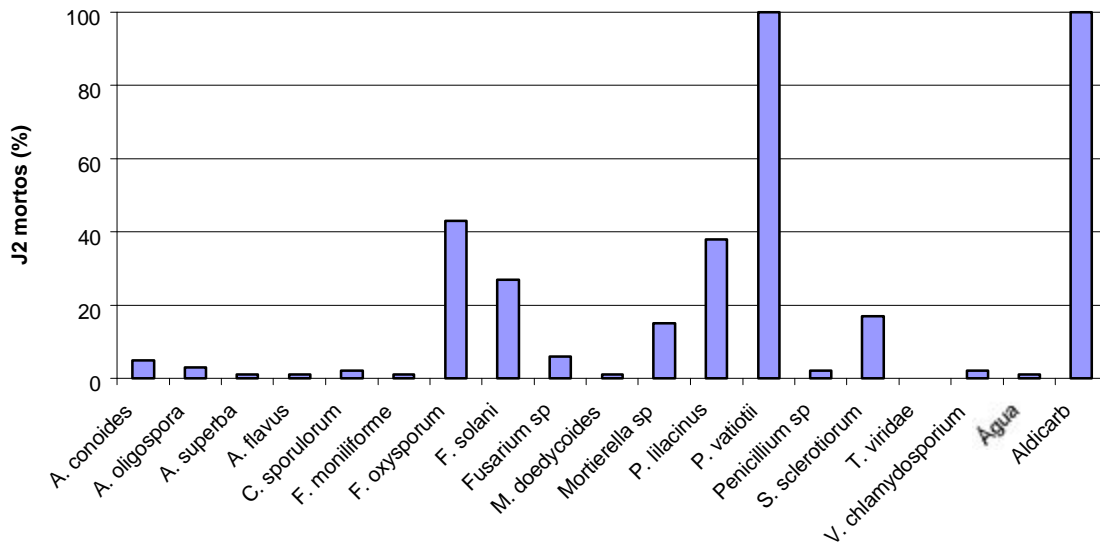


Figura 3 - Mortalidade de J2 de *M. exigua* tratados com filtrados fúngicos.

CONCLUSÕES

Pode-se afirmar que, quando cultivados em meio líquido Czapek, os fungos *A. conoides*, *A. oligospora*, *A. superba*, *A. flavus*, *Mortierella* sp. e *T. viridae* não produzem substâncias tóxicas a *M. exigua in vitro*. Já os fungos *C. sporulorum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium* sp., *M. doedycoides*, *P. lilacinus*, *P. variotii*, *Penicillium* sp., *S. sclerotiorum* e *V. chlamydosporium* apresentam algum tipo de ação tóxica sobre J2 de *M. exigua in vitro*, que pode ser manifestada no teste de motilidade ou/e no de mortalidade. O grande destaque ficou com *P. variotii*, que, em ambos os testes, afetou praticamente 100% dos J2 e, conseqüentemente, foi considerado o fungo com maior potencial para controle de *M. exigua* através da produção de substâncias com propriedades nematicidas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela bolsa de iniciação científica, e ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa em Café, pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPOS, V.P. Implicação da sobrevivência dos nematóides em solos e raízes de plantas no controle dos fitopatógenos. **Informe Agropecuário**, 16 (172): p.15-16. 1992.
- CAMPOS, V.P. Café.3.2. Doenças causadas por nematóides. In: Controle de Doenças de Plantas, Volume 1. Vale, F.X.R.; Zambolim, L. (ed.), UFV, Viçosa-MG, 554 p. 1997.
- COSTA, M.J.N. Filtrados de culturas fúngicas e extratos de plantas e de esterco animais, com ação antagonista a *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Lavras: UFLA, 115 p. Dissertação de Mestrado em Fitopatologia. 2000.
- HUSSEY, R.S. & BARKER, K.R.A. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp including a new technique. **Plant Disease Reporter**, 57 (12): p.1025-1028. 1973.
- MANKAU, R. Biocontrol: Fungi as Nematode Control Agents. **Journal of Nematology**, v.12, p.1-4. 1979.
- MAYER, A.; KILIAN, M.; HOSTER, B.; STERNER, O. & ANKE, H. *In-vitro* and *in-vivo* nematicidal activities of the cyclic dodecapeptide omphalotin A. **Pesticide Science**, 55 (1): p.27-30. 1999.
- WAGNER, C.; ANKE, H. & STERNER, O. Rubrobramide, Cytotoxic and Phytotoxic Metabolite from *Cladobotryum rubrobunnesens*. **Journal of Natural Products** 61 (4): p.501-502. 1998.