

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**LEANDRO NUNES PASSOS**

**FUNGOS NEMATÓFAGOS EM SOLO SOB CULTIVO DE CANA-DE-  
AÇÚCAR**

**Uberlândia – MG  
Novembro – 2011**

**LEANDRO NUNES PASSOS**

**FUNGOS NEMATÓFAGOS EM SOLO SOB CULTIVO DE CANA-DE-  
AÇÚCAR**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Agronomia, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Engenheiro  
Agrônomo.

Orientador: Maria Amelia dos Santos

**Uberlândia – MG  
Novembro – 2011**

**LEANDRO NUNES PASSOS**

**FUNGOS NEMATÓFAGOS EM SOLO SOB CULTIVO DE CANA-DE-  
AÇÚCAR**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Agronomia, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Engenheiro  
Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 14 de novembro de 2011.

Prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães  
Membro da Banca

Prof. Dr. Lucas Carvalho Basilio de Azevedo  
Membro da Banca

---

Prof. Dra. Maria Amelia dos Santos  
Orientadora

## RESUMO

O Brasil é hoje o principal produtor de cana-de-açúcar do mundo. Seus produtos são largamente utilizados na produção de açúcar e etanol. Esta produtividade pode ser afetada por vários fatores, e os nematoides, representam um sério problema fitossanitário para a cultura. Este trabalho teve como objetivo detectar fungos nematófagos presentes em solo sob cultivo de cana-de-açúcar, na Usina Concrenor Indústria e Comércio, no município mineiro de Araguari. O experimento foi conduzido em área cultivada com as variedades SP 81-3250 e SP 91-1049, de cana-de-açúcar, que tem sido manejada sob sistema de plantio direto e as amostras de solo foram retiradas com auxílio do enxadão em cada parte homogênea da área. A área foi dividida em 20 partes homogêneas e a profundidade de coleta do solo correspondeu ao perfil dos 30 cm iniciais. A detecção dos fungos foi efetuada pelo método de espalhamento do solo. Em placas de Petri (100x15mm) esterilizadas contendo ágar-água a 2%, foram colocados 2g de solo das amostras no centro das placas. Adicionou-se 1mL de suspensão contendo nematoides, que serviu de isca para os fungos presentes no solo. As placas foram incubadas à temperatura ambiente. As observações efetuadas diariamente, com auxílio de microscópio estereoscópio (lupa), a partir de 2 dias do início do período de incubação, durante 1 semana. Depois desta primeira semana, foram efetuadas observações semanais, durante 2 meses. As estruturas dos fungos detectados foram recolhidas e colocadas em gota do corante azul de algodão contida em lâmina microscópica para observação no microscópio ótico. Para a identificação dos fungos nematófagos foram utilizadas chaves de identificação que levaram em consideração os tipos de órgãos de captura, formato e tamanho dos conídios, além dos tipos de conidióforos formados. As áreas estudadas apresentaram pequena ocorrência de fungos predadores e endoparasitas. Dos 20 talhões estudados, apenas cinco foram positivos para a presença desses fungos.

A área de cana-de-açúcar estudada apresenta baixa ocorrência de fungos predadores e endoparasitos. Um fator que pode ter contribuído para isto, refere-se às áreas serem relativamente novas com cana-de-açúcar.

**Palavras-chave:** controle biológico, fungos predadores, fungos endoparasitos, nematoides, *Saccharum officinarum*.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	6
2.1 Controle biológico de nematoides por fungos nematófagos .....	6
2.2 Grupos de fungos nematófagos .....	8
2.2.1 Fungos endoparasitos .....	8
2.2.2 Fungos predadores.....	8
2.2.3 Fungos parasitos de ovos e de fêmeas .....	10
2.2.4 Fungos produtores de metabólitos tóxicos .....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Condução do experimento.....	13
3.2 Amostragem de solo .....	14
3.3 Detecção dos fungos nematófagos .....	14
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
5 CONCLUSÕES .....	19
REFERÊNCIAS .....	20

## 1 INTRODUÇÃO

Originária do sudeste da Ásia, onde é cultivada desde épocas remotas, a exploração canavieira assentou-se, no início, sobre a espécie *Saccharum officinarum* L. A cana-de-açúcar chegou ao Brasil, no século XVI, junto com os portugueses. O primeiro alvará que trata sobre a introdução da cana de açúcar no Brasil data de 1516, expedido pelo rei de Portugal, D. Manuel. As primeiras mudas vieram em 1532, na expedição marítima de Martim Afonso de Souza.

O surgimento de várias doenças e de uma tecnologia mais avançada exigiram a criação de novas variedades, as quais foram obtidas pelo cruzamento de *Saccharum officinarum* com as outras quatro espécies do gênero *Saccharum* L. e, posteriormente, através de retrocruzamentos com as ascendentes.

A importância da cana de açúcar pode ser atribuída à sua múltipla utilização, podendo ser empregada in natura, sob a forma de forragem, para alimentação animal, ou como matéria prima para a fabricação de rapadura, melado, aguardente, açúcar e álcool. Além do etanol, pode ser utilizada como fonte de energia a partir do bagaço resultante e da palha deixada após a colheita manual.

O Brasil é o principal produtor de cana-de-açúcar do mundo. Seus produtos são largamente utilizados na produção de açúcar e etanol. Esta produtividade pode ser afetada por vários fatores como clima, adubação, tratos culturais, falta de umidade para as épocas de maior demanda de água pela planta, doenças e pragas que afetam tanto a parte aérea como as raízes dessa cultura.

Os nematoides representam um sério problema fitossanitário para a cultura da cana-de-açúcar, e seu ataque às raízes, prejudica a absorção de nutrientes para o crescimento e desenvolvimento vegetal. Além do dano causado pela utilização de nutrientes da planta, estes parasitos injetam toxinas no sistema radicular, resultando em deformações e necroses. A grandeza dos danos causados por eles, é claramente quantificada em ensaios, nos quais se faz o uso do controle biológico ou controle químico.

Os fungos são os inimigos naturais dos nematoides mais pesquisados (CHEN; DICKSON, 2004). Em razão do crescente interesse por fungos e do progresso nas pesquisas, foram encontradas centenas de espécies de fungos que se alimentam de nematoides.

O objetivo deste trabalho foi detectar e identificar fungos nematófagos em solo sob cultivo de cana-de-açúcar, manejada sob sistema de plantio direto, situada na Usina Araguari, município de Araguari, MG.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Ao todo 275 espécies de 48 gêneros de nematoides já foram registradas associadas à cultura da cana-de-açúcar em termos mundiais, sendo os ectoparasitos os mais frequentes (MAQBOOL; HASHMIN, 1987; MOURA; ALMEIDA, 1981; NOVARETTI et al., 1974). Nas condições brasileiras, três espécies de nematoides são reconhecidamente importantes para a cana-de-açúcar, em função dos danos que causam à cultura: *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *Pratylenchus zaei* Graham. Segundo Dinardo-Miranda (2005), *P. zaei* é a mais comum, embora *M. incognita* seja a mais prejudicial, ou seja, aquela que geralmente causa danos mais severos ao canavial.

O conhecimento da existência de fungos nematófagos é muito antigo. As primeiras pesquisas foram conduzidas por Lodhe, em 1874, com o fungo endoparasito *Harposporium anguillulae* (NOVARETTI, 1986). Contudo, foi a partir da comprovação de que as populações vinham sendo controladas naturalmente por fungos endoparasitos na Inglaterra, que o interesse pelo uso do controle biológico de nematoides experimentou notável aumento em todo mundo (JATALA, 1981; KERRY et al., 1982).

### 2.1 Controle biológico de nematoides por fungos nematófagos

A grande maioria dos fitonematoides passam pelo menos uma parte do seu ciclo de vida no solo, e sua atividade é influenciada pela variação de fatores físicos (temperatura, umidade e aeração), químicos (defensivos, fertilizantes) e, também, biológicos. O componente biológico do ecossistema do solo é particularmente importante em limitar ou estabilizar as populações dos nematoides, por meio de mecanismos de competição, parasitismo, predação e produção de compostos químicos. A ação desses organismos na manutenção das populações de nematoides, a níveis inferiores do que ocorreria na sua ausência, é geralmente, conhecido como “controle biológico” (STIRLING, 1991). Esse fenômeno pode ocorrer naturalmente, por meio do equilíbrio biológico natural da biota do solo, ou de forma reduzida, por meio de introduções artificiais de antagonistas no ambiente ou estimulando a sua atividade no solo (FERRAZ; SANTOS, 1985; JATALA, 1986; STIRLING, 1991).

Vários organismos são considerados inimigos naturais de fitonematoides, como nematoides predadores, tardígrados, vírus, artrópodes, ácaros, fungos e bactérias (STIRLING, 1991). Apesar dessa diversidade de antagonistas, nem todos esses organismos apresentam potencial para serem utilizados na prática no controle biológico de nematoides. Para que um

organismo seja considerado um bom agente de controle biológico, ele deve possuir vários atributos (FREITAS et al., 1999; KERRY, 1989), como: a) não ser patogênico a plantas, seres humanos e outros animais; b) ser eficiente em reduzir ou suprimir a população de nematoides; c) sobreviver a condições extremas no solo na ausência do hospedeiro; d) parasitar diversas espécies de fitonematoides; e) ser capaz de disseminar assim que aplicado ao solo, garantindo o seu estabelecimento; f) ser facilmente e economicamente produzido em massa; g) permanecer infectivo após longo tempo de armazenamento; h) ser compatível com fertilizantes, defensivos químicos e outras práticas culturais; i) não modificar as práticas culturais habituais do produtor para sua aplicação. Apesar de ser praticamente impossível reunir todas essas características em um microrganismo, os fungos e as bactérias são os grupos que apresentam maior número de características desejáveis (FERRAZ; SANTOS, 1995; JATALA, 1986; STIRLING, 1991).

Os fungos são os inimigos naturais dos nematoides mais pesquisados (CHEN; DICKSON, 2004). Os primeiros relatos envolvendo fungos nematófagos datam do século XIX. Em 1852, Fresenius isolou e descreveu *Arthobotrys oligospora*, sem perceber o hábito predatório desse microrganismo, apenas relatado por Zopf, em 1888. Em 1874, Lodhe descreveu o fungo nematófago endoparasítico *Harposporium anguillulae* (GRAY, 1988). Os primeiros experimentos para o controle de nematoides utilizando fungos nematófagos foram realizados no Havaí, por Linford e Yap (1939). Os pesquisadores testaram a eficiência de *Arthobotrys oligospora*, *Arthobotrys musiformis* Drechsler, *Monacrosporium ellipsosporum* (Preuss) Cooke & Dickinson, *Monacrosporium thaumasium* (Drechsler) de Hoog & Oorschot e *Dactylaria candida* (Nees) Saccardo no controle de *Meloidogyne* Goeldi, em plantas de abacaxi (*Ananas comosus*). Durante os 15 meses de cultivo da planta em solo infestado, apenas *Monacrosporium ellipsosporum* restringiu as injúrias causadas pelo nematoide. No Brasil, o primeiro relato de fungos parasitando nematoides foi feito por Freire e Bridge (1985). Na oportunidade, os autores observaram que ovos, juvenis e fêmeas de *Meloidogyne incognita* estavam parasitados por *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson e *Pochonia chlamydosporia* Zam & Gams (sin. *Verticillium chlamydosporium* Goddard).

Segundo Mankau (1980), dentre os fungos nematófagos, destacam-se os que produzem armadilhas para captura dos nematoides (fungos predadores) como as espécies de *Arthrobotrys* Corda, *Dactylaria* Saccardo, *Dactylella* Grove e *Monacrosporium* Oudemans.

Esses fungos se alimentam de nematoides, adotando diferentes estratégias de ação, o que permite agrupá-los em: a) endoparasitos; b) predadores; c) parasitos de ovos e fêmeas; e d) produtores de metabólitos tóxicos (CHEN; DICKSON, 2004; STIRLING, 1991).

## 2.2 Grupos de fungos nematófagos

### 2.2.1 Fungos endoparasitos

Produzem esporos móveis (zoósporos) que se aderem à cutícula do nematoide hospedeiro. Estes esporos germinam e emitem hifas que atravessam a cutícula do nematoide e usam o conteúdo pseudocelomático para a sua nutrição. Após utilizar a fonte de alimento, conídios do fungo são produzidos e liberados no meio externo, quando se aderem novamente a outros nematoides. A maioria dos fungos endoparasitas depende do parasitismo de nematoides e possui fase saprofítica limitada. Além disso, não produzem quase nenhum micélio no solo e completam seu ciclo de vida no interior do corpo do nematoide, não desenvolvendo hifas externamente ao nematoide parasitado. *Hirsutella rhossiliensis* Minter & Brady, *Catenaria auxiliaris* (Ruehn) Tribe, *Nematophthora gynophila* Kerry & Crump, *Drechmeria coniospora* (Drechsler) Gams & Jansson, *Nematoctonus* Drechsler spp., *Acrostalagmus* Preuss spp., *Harposporium* spp., *Myzocitium* Chaudhuri spp., e *Haptoglossa* (Drechsler) Gams & Jansson spp., são exemplos de fungos endoparasitas estudados no controle biológico de nematoides (CHEN; DICKSON, 2004; SIDDIQUI; MAHMOOD, 1996; STIRLING, 1991).

O potencial de uso de fungos endoparasitos em programas de controle biológico é limitado, devido aos seguintes fatores: a) locomoção e atividade os zoósporos depende da presença de água no solo; b) crescimento limitado em meio de cultura, o que dificulta a produção massal; c) baixa habilidade de sobrevivência saprofítica; e d) suscetibilidade de seus esporos ao efeito micostático (SIDDIQUI; MAHMOOD, 1996).

### 2.2.2 Fungos predadores

São comuns e abundantes em solos naturais, agrícolas e em todo tipo de material orgânico (BARRON, 1977). Esses fungos permanecem no solo mesmo na ausência do nematoide, apresentam pouca especificidade pelo nematoide-alvo, são facilmente produzidos em meio de cultura e produzem estruturas especializadas de captura ao longo de suas hifas, conhecidas como armadilhas. A formação dessas estruturas ocorre em resposta do fungo à presença do nematoide, substâncias derivadas deles ou outros compostos de origem biológica. Condições adversas de cultivo, como escassez de água e, ou, de nutrientes, também, podem induzir a formação de armadilhas (BALAN; GERBER, 1972). A ação da hifa pode acontecer

dentro de 24 h e numerosas estruturas de captura podem ser produzidas (PRAMER, 1964). Quanto maior a motilidade dos nematoides, maior é o estímulo do fungo para a produção de armadilhas (NANSEN et al., 1988). Essas armadilhas apresentam características particulares, conforme a espécie de fungo, podendo ser: a) hifas adesivas não modificadas; b) hifas adesivas tridimensionais; c) nódulos adesivos; d) anéis constritores; e) anéis não constritores.

O tipo de armadilha mais comum em fungos predadores são as redes adesivas, encontradas em várias espécies. Os nódulos adesivos são células morfológicamente distintas, cobertas por uma substância adesiva. Anéis não constritores são raros e ficam, passivamente, alojados no corpo de nematoide e, que na tentativa de se livrar do anel, agita o seu corpo, encaixando ainda mais o anel ao redor do corpo. Os anéis constritores são considerados os esquemas de armadilhas mais agressivos e, são constituídos, por três células arqueadas, unidas à hifas por um talo curto com cerca de 20 a 40  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno. O anel, seja de constrição ou não, pode desprender-se do micélio ou se manter ligado a ele. Contudo, em qualquer uma das situações, ocorrerá posterior invasão fúngica no interior do nematoide, consumindo o seu conteúdo e lançando para o meio externo, suas estruturas vegetativas e reprodutivas (BARRON, 1977).

No Brasil, as pesquisas envolvendo o uso de fungos predadores foram intensificadas a partir da década de 1990, principalmente, com espécies dos gêneros *Arthrobotrys* e *Monacrosporium* e em condições de casa de vegetação. No entanto, nem sempre os resultados satisfatórios obtidos com a aplicação de fungos predadores em condições controladas, são confirmados no campo. Na década de 1970, foi lançado na França, um produto à base de *Arthrobotrys superba* (ROYAL 350®) para o controle de nematoides em tomateiro, mas o desempenho do produto em diferentes áreas de cultivo foi inconsistente (STIRLING, 1991). Possivelmente, a explicação para o fato, seja que, nem sempre a época de maior atividade das armadilhas coincide com o período em que os estádios infectivos dos nematoides endoparasitos sedentários estão presentes no solo, como em *Meloidogyne* e *Heterodera* (SIDDIQUI; MAHMOOD, 1996). A partir do momento em que os nematoides penetram nas raízes da planta hospedeira, eles ficam protegidos do parasitismo dos fungos predadores e, dessa forma, os antagonistas devem esperar pela eclosão de novos juvenis. Além disso, esses fungos são suscetíveis ao antagonismo de outros fungos e dependentes da presença de matéria orgânica no solo. Para ocorrer a predação é necessário que haja crescimento micelial e formação de armadilhas. Os dois processos requerem energia, que pode ser suprida por carboidratos presentes na matéria orgânica (STIRLING, 1991). Dessa forma, a aplicação em

conjunto com alguma fonte de matéria orgânica poderia aumentar a germinação dos esporos, o crescimento micelial, a atividade predatória do fungo e favorecer a competição desses fungos com os demais organismos do solo.

### 2.2.3 Fungos parasitos de ovos e de fêmeas

Colonizam fêmeas e ovos de nematoides, principalmente *Meloidogyne* spp., *Heterodera* Schmidt spp. e *Globodera* Skarbilovich spp., não exercendo parasitismo sobre as formas móveis do patógeno (NORDBRING-HERTZ; JANSSON; TUNLID, 2002). As duas principais espécies fúngicas do grupo, *Pochonia chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus*, são consideradas por muitos pesquisadores como as mais promissoras para o controle biológico de nematoides (CHEN; DICKSON, 2004; JATALA, 1986; KERRY et al., 1982; SIDDIQUI; MAHMOOD, 1996). Fêmeas de nematoides sedentários produzem grande quantidade de ovos, para assegurar a sobrevivência da população e, ao parasitar uma fêmea ou uma massa de ovos, o fungo elimina grande quantidade de indivíduos de uma vez só (KERRY, 1981).

*Paecilomyces lilacinus* é primariamente saprófita, crescendo em vários substratos presentes no solo. A colonização de ovos, após o crescimento micelial na massa de ovos, parece ocorrer por simples penetração através da cutícula do ovo pela hifa, em razão da atividade enzimática e pressão mecânica. O fungo dissemina-se rapidamente em solos agricultáveis, tornando-se, em curto espaço de tempo, a espécie dominante onde é aplicado. Este antagonista tem sido muito explorado no controle de nematoides, não apenas em pesquisas, mas também comercialmente, na forma de bionematicidas. No entanto, a possibilidade de alguns isolados de *Paecilomyces lilacinus* causarem infecções oculares e lesões faciais em humanos limitou o registro de bioprodutos à base desse fungo (STIRLING, 1991).

*Pochonia chlamydosporia* parasita ovos e fêmeas que ainda não começaram a deposição de ovos. Tanto ovos no interior de fêmeas localizadas nas raízes, como dentro dos cistos, no caso dos gêneros *Heterodera* e *Globodera*, ou no solo e em massas gelatinosas, por exemplo do gênero *Meloidogyne*, podem ser parasitados (KERRY, 2001). Wang et al. (2005) observaram a supressão de *Rotylenchulus reniformis* por *Pochonia chlamydosporia*, em beterraba, cultivado em casa de vegetação. Esse nematoide, também, produz massa de ovos na superfície das raízes. *Pochonia chlamydosporia* e *Nematophthora gynophila* foram responsáveis pelo declínio natural da população do nematoide de cistos dos cereais,

*Heterodera avenae*, sob monocultura intensiva de aveia a Inglaterra, entre os anos de 1955 e 1968 (GAIR et al., 1969).

Alguns isolados desse fungo apresentam várias características que o torna um bom agente de controle biológico de nematoides. O fungo não é dependente da presença de nematoide para a sua nutrição, podendo atuar como saprófita na ausência do hospedeiro (KERRY, 2001). As características do solo, como textura e umidade, não exercem muita influência no processo de infecção do nematoide por *Pochonia chlamydosporia* (KERRY et al., 1982; STIRLING, 1991). A enzima VCP1, produzida por *Pochonia chlamydosporia* degrada a camada lipídica de ovos de *M. incognita* expondo a camada de quitina (SERGERS et al., 1994). Essa enzima pode atuar, também, sobre ovos de outros fitonematoides e afetá-los negativamente. O fungo é inócuo a seres humanos e a outros animais, é facilmente produzido 'in vitro' em substratos sólidos e produz elevado número de clamidósporos, estruturas que favorecem sua longa sobrevivência e estabelecimento no solo, mesmo na ausência de nematoides. Tais estruturas facilitam a produção de inóculo e a formação de produtos à base de *P. chlamydosporia* (KERRY, 2001).

Segundo Ayatollahy, Fatemy e Estebarian (2008), *P. chlamydosporia* é geralmente mais eficiente em reduzir a população de *Heterodera schachtii* quando aplicado na forma de clamidósporos do que quando aplicado na forma de grãos colonizados. Outra característica marcante é a sua capacidade de colonização na rizosfera de algumas plantas, permitindo a multiplicação de seu inóculo no solo (KERRY, 2001). A multiplicação do fungo é mais abundante em raízes infectadas por nematoides que em raízes sadias (BOURNE et al., 1996). Este estímulo ao crescimento do fungo em raízes infectadas por nematoides ocorre após, aproximadamente, 5 semanas de cultivo da cultura (quando as massas de ovos aparecem) e pode resultar da direta colonização da massa de ovos ou da liberação de nutrientes na rizosfera (BOURNE et al., 1996). Enzimas produzidas por *P. chlamydosporia* degradam a matéria orgânica nas redondezas das raízes e disponibilizam nutrientes para a planta hospedeira, que se nutre melhor e se desenvolve mais que na ausência do fungo, gerando incremento na produtividade de cultivos comerciais.

Em razão dos resultados promissores envolvendo *P. chlamydosporia*, bioprodutos à base do fungo têm sido desenvolvidos em todo o mundo e, em alguns países, a exemplo de Cuba, tais produtos estão sendo comercializados. Nos últimos anos, a equipe do Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides do Departamento de Fitopatologia da UFV tem pesquisado, intensamente, o efeito de *P. chlamydosporia* no controle de nematoides e na promoção de crescimento das plantas, formas de produção massal do fungo e tecnologias de

aplicação no campo (COUTINHO et al., 2007; GIARETTA et al., 2006; ZOOCA et al., 2006). Além dos resultados animadores em casa de vegetação, o fungo *P. chlamydosporia* tem se mostrado eficiente, também, no campo, resultando em um aumento de produtividade em cenoura, pepino e tomate em diferentes localidades no Estado de Minas Gerais.

#### 2.2.4 Fungos produtores de metabólitos tóxicos

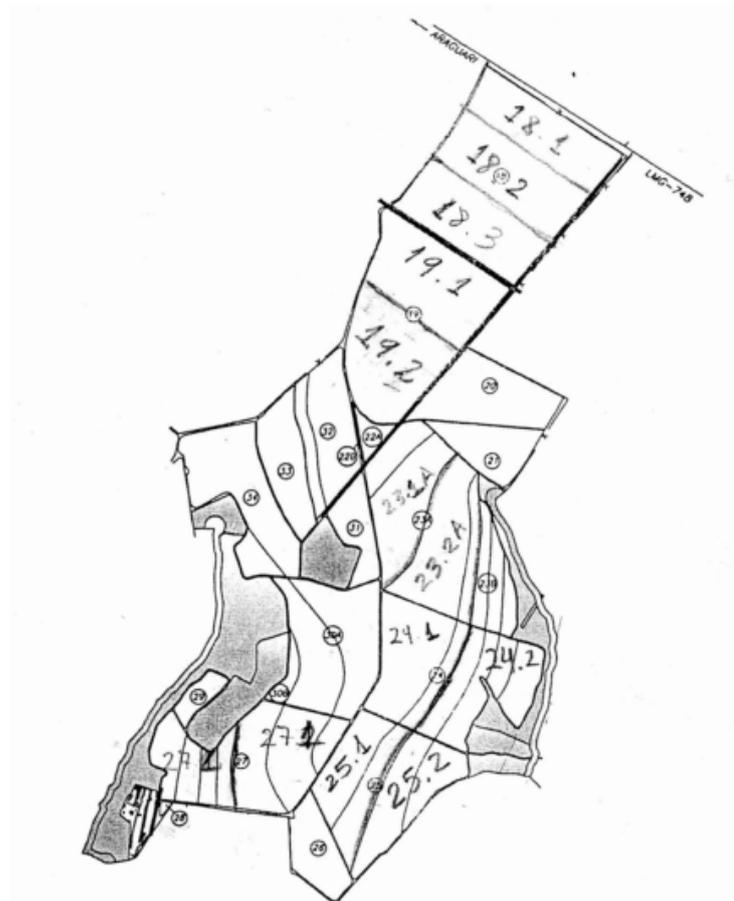
Metabólitos produzidos podem exercer efeito sobre a eclosão, mobilidade e capacidade de penetração dos nematoides no hospedeiro, ou ainda alterar a fisiologia da planta, tornando-a menos atrativa aos nematoides (KHAN et al., 1984). Em alguns estudos, filtrados de fungos dos gêneros *Pochonia* Bat. & Fonseca, *Aspergillus* Micheli, *Pleurotus* (Fr.) Krumm., *Penicillium* Link, *Paecilomyces* Bainier, *Trichoderma* Persoon, *Myrothecium* Tode ex Fr. e *Fusarium* Wilt apresentaram efeito nematótico (AMEEN, 1991; AYATOLLAHY et al., 2008; CHEN; DICKSON, 2000; COSTA et al., 2001; HALLMANN; SIKORA, 1996; KHAN et al., 1984; NITAO et al., 1999). O conhecimento sobre o efeito de micotoxinas no controle de nematoides ainda é limitado, carecendo de investigações mais detalhadas. Extratos purificados de *Aspergillus* e *Penicillium*, a 100 e 200 ppm (MOLINA; DAVIDE, 1986), e de *Fusarium* spp. (CIANCIO et al., 1988) apresentaram elevada atividade nematicida contra *M. incognita*. *Trichoderma* spp., notório agente de controle biológico de fungos fitopatogênicos, produzem substâncias capazes de inibir a eclosão e a mobilidade de juvenis de *M. incognita* (MEYER et al., 2000).

A prospecção por substâncias nematicidas produzidas por fungos é uma abordagem que deve ser encorajada e que pode resultar em produtos eficientes e menos tóxicos (KERRY, 1990). Existe um produto no mercado americano baseado no produto da fermentação de *Myrothecium verrucaria* e que se mostra eficiente no controle de *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Globodera*, *Pratylenchus* Filipjev, *Trichodorus* Cobb, *Belonolaimus* Steiner e *Radopholus similis* (Cobb) Thorne (GRAU et al., 1996; HAFEZ et al., 1996; WARRIOR et al., 1999).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Condução do experimento

No experimento, os 20 talhões divididos por características homogêneas de solo e vegetação, apresentaram as variedades cultivadas de cana-se-açúcar SP 81-3250 e SP 91-1049, que estavam em segundo e terceiro cortes, manejadas sob sistema de plantio direto, situada na Usina Araguari, município de Araguari, MG (Figura 1 e Tabela 1).



**Figura 1:** Mapa da área estudada para detecção de fungos nematófagos.

**Tabela 1:** Caracterização da área estudada na Usina Araguari, Araguai/MG.

<b>QUADRO DE VARIEDADES</b>				
<b>TALHÃO</b>	<b>VARIEDADE</b>	<b>ÁREA(ha)</b>	<b>PLANTIO</b>	<b>ESTÁGIO</b>
18.3	SP 81-3250	59,35	fevereiro/07	3°
19.1	SP 81-3250	46,47	fevereiro/07	3°
19.2	SP 81-3250	46,47	fevereiro/07	3°
21	SP 81-3250	9,7	fevereiro/07	3°
22 <sup>a</sup>	SP 91-1049	2,1	maio/08	2°
22B	SP 81-3250	0,23	maio/08	2°
23.2 <sup>a</sup>	SP 91-1049	36,83	maio/08	2°
23B	SP 81-3250	12,74	maio/08	2°
24	SP 81-3250	39,6	maio/08	2°
25.1	SP 81-3250	34,02	maio/08	2°
25.2	SP 81-3250	34,02	maio/08	2°
27.1	SP 81-3250	35,14	maio/08	2°
28	SP 81-3250	0,25	maio/08	2°
29	SP 81-3250	3,06	maio/08	2°
30 <sup>a</sup>	SP 91-1049	25,86	maio/08	2°
30B	SP 81-3250	1,97	maio/08	2°
31	SP 81-3250	7,06	outubro/07	2°
32	SP 81-3250	16,62	outubro/07	2°
33	SP 81-3250	11,67	outubro/07	2°

### 3.2 Amostragem de solo

As amostras de solo foram retiradas com auxílio do enxadão em cada parte homogênea da área. A área foi dividida em 20 partes homogêneas, de acordo com a Figura 1. A profundidade de coleta do solo correspondeu ao perfil dos 30 cm iniciais e o caminhar em zigue-zague foi usado para a coleta das amostras simples.

### 3.3 Detecção dos fungos nematófagos

A detecção dos fungos foi efetuada pelo método de espalhamento do solo segundo Barron (1977) modificado por Santos (1991), em placas de Petri (100x15mm) esterilizadas contendo ágar-água a 2%. Essa técnica não detecta fungos parasitas de ovos e de fêmeas ou fungos produtores de metabólitos tóxicos.

O solo de cada amostra composta foi homogeneizado e retirou-se 2g desse solo, que foram colocados no centro das placas de Petri. Em seguida, foi adicionado 1mL de suspensão contendo nematoides, que serviu de isca para os fungos presentes no solo. A isca constituiu de uma população mista de nematoides de vida livre e de parasitos de plantas.

As placas foram incubadas à temperatura ambiente.

As observações foram efetuadas diariamente, com auxílio de microscópio estereoscópio (lupa), a partir de 2 dias do início do período de incubação, durante 1 semana. Depois desta primeira semana, foram efetuadas observações semanais, durante 2 meses. As estruturas dos fungos detectados foram recolhidas e colocadas em gota do corante azul de algodão contida em lâmina microscópica para observação no microscópio ótico.

Para a identificação dos fungos nematófagos foram utilizadas chaves de identificação de Cooke e Godfrey (1964), Barron (1972) e Rubner (1996), que levam em consideração os tipos de órgãos de captura, formato e tamanho dos conídios, além dos tipos de conidióforos formados.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 20 talhões estudados, houve presença de fungos nematófagos em apenas 5 (Figura 2 e Tabela 2).

A Figura 2 ilustra a área estudada e os talhões onde foram detectados fungos nematófagos, ou seja, os talhões: 18.3; 23.2 A; 27.1; 30 e 31.



**Figura 2:** Demarcação dos talhões em lavouras de cana-de-açúcar com a presença de fungos nematófagos.

**Tabela 2:** Fungos predadores e endoparasitos detectados na área estudada de lavoura de cana-de-açúcar. UFU, Uberlândia, agosto/setembro de 2011.

Talhão	Variedades	Estádio	Fungos nematófagos		
			Grupo	Gênero	Estrutura de captura
18.3	SP 81-3250	3°	Predador	<i>Monacrosporium</i> sp.	Redes adesivas
23.2 A	SP 91-1049	2°	Predador	Sem identificação	Redes adesivas
27.1	SP 81-3250	2°	Predador	<i>Dactylella</i> sp.	Nódulos adesivos
30	SP 91-1049	2°	Endoparasito	<i>Catenaria</i> sp.	X
31	SP 81-3250	2°	Predador	<i>Arthobotrys</i> sp.	Nódulos adesivos

x- fungo endoparasito: não há formação estrutura de captura.

O talhão 18.3, cultivado com a variedade SP 81-3250 e no terceiro corte, apresentou *Monacrosporium* sp., um fungo predador, com estruturas de captura do tipo redes adesivas. No talhão 23.2 A, cultivado com a variedade SP 91-1049 e no segundo estágio de desenvolvimento, dois fungos predadores foram encontrados, apresentando redes adesivas bidimensionais como órgãos de captura.

O talhão 27.1, cultivado com a variedade SP 81-3250, no segundo corte, apresentou *Dactylella* sp., um outro fungo predador que forma estruturas de captura do tipo nódulos adesivos.

O talhão 30, cultivado com a variedade SP 91-1049, no segundo corte, apresentou *Catenaria* sp., um fungo endoparasito. Fungos endoparasitos completam seu ciclo de vida no interior do corpo do nematoide, não desenvolvendo hifas externamente ao nematoide parasitado.

O talhão 31, cultivado com a variedade SP 81-3250 e no segundo estágio de desenvolvimento, apresentou *Arthobotrys* sp., um fungo predador, formador armadilhas do tipo nódulos adesivos.

Dos cinco talhões que apresentaram fungos nematófagos, quatro continham fungos predadores e apenas um talhão apresentou fungo endoparasito. Não foi detectada a presença de fungos nematófagos, nos outros 15 talhões estudados.

Segundo Dias et al.(1995), em um trabalho realizado com 150 amostras de solo, apenas 21 apresentaram fungos predadores. Segundo os autores, a baixa frequência dos fungos poderia ser atribuída aos baixos teores de umidade do solo das amostras e o fato de que 70% delas foram coletadas em solos reflorestados com eucalipto, os quais continham baixa população de fitonematoides. Segundo Duddington (1951), deve-se assumir que quanto

maior a população de nematoides no solo, maiores serão as chances de se detectarem fungos nematófagos. No trabalho foram detectados 19 isolados do gênero *Arthobotrys* sp. e dois isolados contendo *Monacrosporium* sp.. Não foi observada qualquer relação entre fungo isolado, cobertura vegetal do solo e a região de origem da amostra.

## 5 CONCLUSÕES

A área de cana-de-açúcar estudada apresenta baixa ocorrência de fungos predadores e endoparasitos.

Os fungos identificados foram *Monacrosporium* sp., *Dactylella* sp. e *Arthobotrys* sp. como predadores e *Catenaria* sp. como endoparasito de nematoides.

## REFERÊNCIAS

- AMEEN, H. H. Nematicidal effect of *Aspergillus ochraceus* filtrate. **Bulletin Faculty Agriculture**, Cairo, v.42, p. 963-70, 1991.
- AYATOLLAHY, E.; FATEMY, S.; ESTEBARIAN, H. R. Potential for biological control of *Heterodera schachtii* by *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* on sugar beet. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 157-67, 2008.
- BALAN, J.; GERBER, N. Attraction and killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predaceous fungus *Arthobotrys dactyloides*. **Nematologica**, Leiden, v.18, p. 163-73, 1972.
- BARRON, G.L. **The genera of Hyphomycetes from soil**. Huntington: Krieger Publishing Co. 1972. 364 p.
- BARRON, G.L. **The nematode-destroying fungi**. Ghelph: Canadian Biological Publications Ltda. 1977. 140 p.
- BOURNE, J.M.; KERRY, B.R.; DE LEIJ, F.A.A.M. The importance of the host plant on the interaction between root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v.6, p.39-548, 1996.
- CHEN, S.; DICKSON, D. W. A technique for detecting viability of second-stage juvenile of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, College Park, p. 117-21, 2000.
- CHEN, S.; DICKSON, D. W. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKSON, D. W. (ed.). **Nematology – Advances and perspectives**, v. 2, Nematode Management and Utilization. Tsinghua: University Press; CABI Publishing, 2004. p. 979-1039.
- CIANCIO, A.; LOGRICCO, A.; LAMBERTI, L.; BOTTALICO, A. Nematicidal effects of some *Fusarium* toxins. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 16, p. 137-8, 1988.
- COOKE, R. C.; GODFREY, B. E. S. A key to the nematode-destroying fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.47. n.1, p. 61-74, 1964.
- COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; PFENNING, L. H.; OLIVEIRA, D. F. Toxicidade de filtrados fúngicos a *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, p. 749-55, 2001.
- COUTINHO, M.M.; FREITAS, L.G.; DALLEMOLEGIARETTA, R.; NEVES, W.S.; FERRAZ, S. Efeito da incorporação de fibra de coco colonizada por *Pochonia chlamydosporia* e de farinha de semente de mamão sobre *Meloidogyne javanica*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2007, Goiânia, **Resumos...** Goiânia: UFG, 2007. p. 49.

DIAS, W. P.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. J. Detecção, isolamento e identificação de fungos predadores de nematoides em amostras de solo de diferentes regiões do Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 42, n. 244, p. 615-620, 1995.

DINARDO-MIRANDA, L.L. Nematóides e pragas de solo em cana-de-açúcar. Potafos, **Encarte Técnico Informações Agronômicas**. Piracicaba, n.110, p.25-32, 2005.

DUDDINGTON, C. L. The ecology of predaceous fungi. Preliminary survey. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 34, p. 322-31, 1951.

FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Comparação do efeito antagonista de algumas espécies de plantas sobre *Meloidogyne javanica*. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 9., 1985, Piracicaba, **Resumos...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1985. p. 65.

FREIRE, F. C. O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.10, p. 577-96, 1985.

FREITAS, L. G.; NEVES, OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: Editora UFV, 1999. 84 p. (Cadernos didáticos, 58).

GAIR, R.; MATHIAS, P. L.; HARVEY, P. N. Studies of cereal nematode populations and cereal yields under continuous or intensive culture. **Annals of Applied Biology**. Warwick, v. 63, p. 503-512, 1969.

GIARETTA, R. D.; ZOOCA, R. J.; FREITAS, L. G.; NEVES, W. S.; FERRAZ, S.; FABRY, C.F.S. *Pochonia chlamydosporia* como promotor de crescimento de plântulas de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.31, p. 191, 2006.

GRAU, P. A.; HOPKINS, R.; RADEWALD, J. D; WARRIOR, P. Efficacy of Ditera® biological nematicide for root-knot nematode suppression on carrot. **Nematropica**, Bradenton, v.26, p.268, 1996.

GRAY, N.F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: POINAR Jr., G.O; JANSSON, H.B. (ed.). **Disease of nematodes**, v.2. Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 3-38.

HAFEZ, S. L.; WEISER, G. C.; GRAU, P. A.; WARRIOR, P. Efficacy of two formulations of AGB-9008, a biological nematicide, on sugar-beets grown in soil infested with *Heterodera schachtii*. **Nematropica**, Bradenton, v.26, p. 270. 1996.

HALLMANN, J.; SIKORA, R. A. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant-parasitic nematodes and soil-borne plant pathogenic fungi. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 102, p. 155-62, 1996.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 24, p. 453-89, 1986.

JATALA, P. Multiple application and longterm effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field conditions. **Journal of Nematology**, College Park, v.13, n.4, p.445, 1981.

- KERRY B.R. Progress in the use of biological agents for control of nematodes. In: PAPAVIDAS, G. C. (ed.). **Biological Control in Crop Production**. Allanheld: Osmum, 1981. p. 79-90.
- KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal-cyst nematode, *Heterodera avenae* Woll. under continuous cereals, 1975-1978: II. Fungal parasitism of nematode eggs and females. **Annals Applied Biology**, Harpenden, v. 100, p. 489-99, 1982.
- KERRY, B. R. Fungi as a biological control agents for plant parasitic nematodes. In: WHIPPS, J. M.; LUMSDEN, R. D. (ed.). **Biotechnology of fungi for improving prant growth**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p. 153-70.
- KERRY, B. R. As Assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, College Park, v. 22, p. 621-31, 1990.
- KERRY, B. R. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamidosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: BUTT, T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (ed.). **Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential**. Wallingford: CAB International. 2001. p. 380-95.
- KHAN, T. A.; AZAM, M. F.; HUSAIN, S. I. Effect of fungal filtrates of *Aspergillus niger* and *Rhizoctonia solani* on penetration and development of root-knot nematodes and the plant growth to tomato var. Marglobe. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v. 14, p. 106-9, 1984.
- LINFORD, M.B; F. YAP. Root-knot nematode injury restricted by a fungus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 29, p. 596-608, 1939.
- MANKAU, R. Biological control of *Meloidogyne* populations by *Bacillus penetrans* in West Africa. **Journal of Nematology**, College Park, v.12, p. 244-52, 1980.
- MAQBOOL, M.A.; HASHMIN, S. Effect of granular nematicides on nematode populations and sugarcane yield. **Revue de Nématologie**, Bondy, v. 10, p. 111-113, 1987.
- MEYER, S. L. F.; MASSOOD, S. L.; CHITWOOD, D. J.; ROBERTS, D. P. Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Nematology**, Leiden, v.2, p. 871-9, 2000.
- MOLINA, G. C.; DAVIDE, R. G. Evaluation of microbial extracts for nematicidal activity against parasitic nematodes *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis*. **Philippine Agriculturist**, Los Banos, v.69, p. 173-86, 1986.
- MOURA, R.M.; ALMEIDA, A.V. Estudos preliminares sobre a ocorrência de fitonematóides associados à cana-de-açúcar em área de baixa produtividade agrícola no Estado de Pernambuco. **Sociedade Brasileira de Nematologia**, Piracicaba, v. 5, p. 213-220, 1981.
- NANSEN, P.; GRONVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A. Interactions between the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* and third-stage larvae of a series of animal-parasitic nematodes. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 26, p. 329-337, 1988.

NITAO, J. K.; MEYER, S. L. F.; CHITWOOD, D. In-vitro assays of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* for detection of nematode antagonistic fungal compounds. **Journal of Nematology**, College Park, v. 31, p. 172-83, 1999.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. In: **Encyclopedia of life sciences**. Basingstoke: Macmillan Publishers, 2002. p. 681-690.

NOVARETTI, W. R. T.; ROCCIA, A. O.; LORDELLO, L. G. E.; MONTEIRO, A. R. Contribuição ao estudo dos nematóides que parasitam a cana-de-açúcar em São Paulo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 1., 1974, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1974. p. 27-32.

NOVARETTI, W.R.T. Controle biológico de nematóides fitopatogênicos. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1., 1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação Cargill, 1986, p.24-38.

PRAMER, D. Nematode- trapping fungi. **Science**, New Jersey, v. 144, p. 382-8, 1964.

RUBNER, A. **Revision of predacious Hyphomycetes in the *Dactyella-Monacrosporium* complex**. Utrecht: Centralbureau voor Schimmelcultures, 1996. 134 p. (Studies in Micology, 39).

SANTOS, M. A. **Deteção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos em solos do Brasil**. 1991. 97 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1991.

SERGERS, R.; BUTT, T. M.; KERRY, B. R.; PEBERDY, J. F. The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* produces a chymoelastase-like protease which hydrolyses host nematodes proteins in situ. **Microbiology**, Reading, v. 140, p. 2715-23, 1994.

SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 58, p. 229-39, 1996.

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

WANG, S.Y.; CHEN, P.F.; CHANG S.T.. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. **Bioresource Technology**, Essex, v. 96, p. 813– 818, 2005.

WARRIOR, P.; REHBERGER, L. A., BEACH, M.; GRAU, P. A.; KIRFMAN, G. W.; CONLEY, J. M. Commercial development and introduction of DiTera®, a new nematicide. **Pesticide Science**, Oxford, v.55, p.376-9, 1999.

ZOCCA, R. J.; GIARETTA, R. D.; PODESTA, G. S.; NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; FERRAZ, S. Produção de clamidósporos por diferentes isolados de *Pochonia chlamydosporia*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.31, p.188, 2006. (Resumo).