

## TESTE *IN VITRO* DA PATOGENICIDADE DE FUNGOS CONTRA *Meloidogyne incognita* E *Meloidogyne enterolobii*

*Thaiana Santos Oliveira*<sup>1</sup>, *Arlete José da Silveira*<sup>2</sup>, *Priscila Silva Miranda*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) / Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PPGPV), Rodovia Ilhéus/Itabuna, km 16, 45662-900, Ilhéus, Bahia, Brasil, thaianaso@gmail.com; miranda.priscila48@gmail.com;

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) / Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais (DCAA), arletesilveira@uesc.br.

O presente trabalho tem como objetivos realizar testes *in vitro* de patogenicidade de fungos nematófagos (*Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* e *Monacrosporium megalospora*) contra *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii* e selecionar cepas mais virulentas a estes patógenos. Estes fungos foram previamente detectados e identificados para realização dos testes *in vitro* contra *M. enterolobii* e *M. incognita* raça 1 e 3. A partir de massas de ovos dos nematoides (cultura pura), foram preparadas suspensões aquosas de juvenis de segundo estágio (J2) para os testes *in vitro*. Discos do meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) contendo micélio de culturas axênicas dos fungos avaliados foram transferidos, separadamente, para placas de Petri contendo ágar-água (AA) a 2%. Após o crescimento fúngico, foi depositado em cada placa 1 mL/placa (cinco repetições) de suspensão de J2 contendo em torno de 100 a 150 J2/mL de cada nematoide, separadamente. As avaliações foram realizadas após 24, 48 e 72 horas, da inoculação. Nematoides-de-vida-livre (*Panagrellus redivivus*) foram utilizados como testemunha de suscetibilidade aos fungos. Nas condições testadas, *A. musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* e *Monacrosporium megalospora*, foram patogênicos aos fitonematoides em estudo. Ressalta-se que, *A. musiformis* se mostrou mais virulento aos fitonematoides e *A. conoides* ao nematoide-de-vida-livre.

**Palavras-chave:** Nematode das galhas, biocontrole, fungos nematófagos.

***In vitro* test of fungi pathogenicity against *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne enterolobii*.** This paper aimed to realize *in vitro* pathogenicity tests of nematophagous fungi (*Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* and *Monacrosporium megalospora*) against *Meloidogyne incognita* and *M. enterolobii*, and select the more virulent strains to these pathogens. These fungi were previously detected, were identified to conduct *in vitro* tests against *M. enterolobii* and *M. incognita* race 1 and 3. From egg masses of these nematodes (pure cultures), aqueous suspensions of juvenile nematodes of second stage (J2) were prepared to *in vitro* tests. Discs from potato-dextrose-agar (PDA) culture medium containing mycelia of axenic cultures of the fungi evaluated were transferred, separately, to petri dishes containing 2% agar-water (AW). After fungal growth, 1mL/dish (five replications) of the suspension containing approximately 100-150 J2 individuals per mL of each nematode, separately, was deposited on each plate. The evaluations were done 24, 48 e 72 hours after inoculation. Free-living nematodes (*Panagrellus redivivus*) were used as susceptible control to the fungi. In tested conditions, *A. musiformis*, *A. oligospora*, *A. conoides* and *Monacrosporium megalospora* were pathogenic to the nematodes used in this study. It is emphasized that *A. musiformis*, showed the highest virulence against phytonematoids and *A. conoides* against to the free-living nematode.

**Key words:** Gnomes nematoid, biocontrol, nematophagous fungi.

## Introdução

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

Com relação aos agentes causais de doenças, os fitonematoides estão entre os principais grupos de fitopatógenos. Em termos práticos, considera-se o controle biológico dos fitonematoides como sendo a redução dos danos causados por estes organismos pela ação de agentes antagonistas (Gomes, Araújo, Ribeiro, 1999). De acordo com estes autores, esta redução nos danos pode ocorrer naturalmente, ou pela manipulação do ambiente ou, ainda pela introdução em massa de antagonistas. Devido à multiplicidade de fatores envolvidos nas complexas relações entre nematoides e as plantas hospedeiras, o controle satisfatório raramente é alcançado por uma só medida. Por isso, o controle biológico deve ser considerado como uma das várias medidas complementares em um programa de manejo integrado (Gallo et al., 2002).

O sucesso econômico e ecológico do manejo dos fitonematoides requer a adoção de práticas combinadas, e neste contexto, o controle biológico poderá se constituir numa alternativa viável (Carneiro, 1992). Os nematoides possuem diversos inimigos naturais, destacando-se entre eles bactérias, fungos, protozoários, insetos, ácaros e outros nematoides predadores. Dentre esses organismos, os fungos são os que têm recebido maior atenção devido à facilidade de serem encontrados no solo (Kerry, 1987). A habilidade dos fungos nematófagos em colonizar a rizosfera tem sido apontada como uma característica importante em um agente de biocontrole. Devido à ocorrência destes fungos em diferentes ecossistemas, e por se mostrarem promissores, eles têm sido alvos de estudos por diversos pesquisadores (Bernardo; Santos, 2004; Lopes et al., 2007; Silveira (Maia), Santos, Di Mauro, 2001; Silveira (Maia), 2000; Santos, 1996; Ribeiro et al., 1999; Almeida et al., 2014).

O controle biológico de fitonematoides e de outros fitopatógenos, utilizando-se fungos nematófagos e/ou

outros microrganismos, é de suma importância para a restauração do equilíbrio desfavorecendo a biologia e a população dos agentes causais de doenças. Para tal, são necessárias pesquisas visando produzir e disponibilizar produtos não tóxicos a serem utilizados em um manejo integrado dos mesmos.

O gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, está distribuído nas zonas tropicais e temperadas, sendo fitoparasita de espécies de grande importância agrônoma (Cordeiro et al., 2008). Nematoides deste gênero provocam galhas nas raízes, o que irá reduzir a absorção de nutrientes e a translocação da água resultando em um menor crescimento da planta (Tihohod, 1993). No Brasil, este gênero causa danos consideráveis a produtividade, estando entre os patógenos de maior importância econômica no mundo, considerado impossível cultivar economicamente certas plantas em áreas infestadas sem que haja implementação de rigorosas e sistemáticas medidas de controle (Cofecwicz et al., 2004; Valiente, Alvarez, Santander, 1990).

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

## Material e Métodos

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

### Técnica de cultivo e manutenção de cultura pura de nematoide-de-vida-livre (NVL)

A metodologia utilizada baseou-se na técnica proposta por Santos (1991). Em câmara de fluxo laminar as populações puras de *Panagrellus redivivus*, nematoide-de-vida-livre (NVL), utilizadas como isca na execução do trabalho, foram multiplicadas em placas de Petri esterilizada contendo meio de cultura de farinha de aveia macerada e umedecida com água destilada e autoclavada (Santos,

1991). As placas permaneceram em temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) e, em condições de escuro, para que houvesse a multiplicação da população do nematoide. Para a manutenção das mesmas foram realizadas repicagens em períodos de sete a 10 dias para novas placas contendo o mesmo meio de cultura.

Para a obtenção da suspensão do NVL foi adicionada água destilada no interior das tampas, onde fica a maioria dos nematoides. A suspensão aquosa, dos mesmos, foi transferida para um béquer.

### Testes de patogenicidade *in vitro* de fungos nematófagos

Em condições de casa de vegetação culturas puras de *M. enterolobii*, *M. incognita* raças 1 e 3 foram multiplicadas em *Impatiens walleriana* Hook. F (maria-sem-vergonha ou beijo-turco), cultivadas em vasos de plásticos com capacidade para 6 L, contendo substrato. Raízes infectadas por estes fitonematoides foram coletadas, separadamente, e lavadas para o Laboratório, onde foram processadas segundo metodologia proposta por Coolen & D'Herde (1972). Para obtenção da suspensão, de cada fitonematoide, as raízes foram lavadas para retirar o excesso de solo, cortadas em pedaços de aproximadamente 1 cm, homogeneizadas e retiradas 20 g. As raízes foram trituradas em liquidificador por 15 segundos com hipoclorito de sódio 0,5% (NaClO) para a dissolução da matriz gelatinosa. Em seguida, transferiu-se a suspensão resultante para peneira de 20 mesh sobre a de 500 mesh lavando com água corrente para retirar o excesso de hipoclorito.

A suspensão de nematoides, retidos na peneira de 500 mesh foram transferidos para Becker, deixando um volume de 40 mL, em seguida acrescentou-se 1 cm<sup>3</sup> de caulim, homogeneizando a suspensão com auxílio de um bastão de vidro.

A suspensão foi transferida para os tubos da centrífuga sendo centrifugado por quatro minutos a 1.750 rpm. Logo após a centrifugação, foi eliminado o sobrenadante e adicionou-se a solução de sacarose, centrifugando novamente a 1.750 rpm por um minuto. Em seguida, verteu-se o sobrenadante sobre a peneira de 500 mesh sendo lavados com água de torneira corrente os nematoides retidos na peneira. Com auxílio de pisseta os nematoides foram transferidos para Becker de 50 mL.

Em cinco placas de Petri esterilizadas contendo tela de nylon e papel, tipo lenços duplos, foram depositadas as suspensões. Em seguida, adicionaram-se 10 mL de água destilada autoclavada e mantidas à temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ). As suspensões de juvenis eclodidos no período de 24 h, 48 h e 72 h foram transferidas, com auxílio de pisseta, para Becker de 50 mL, mantidos em geladeira a  $5^\circ\text{C}$ .

Ao fim do processo de extração dos nematoides, nas câmaras úmidas, as suspensões foram homogeneizadas e retirado 1 mL de cada suspensão, separadamente, e adicionado na lâmina de Peters. As leituras foram feitas ao microscópio estereoscópio, visualizando e quantificando os nematoides presentes, na região quadriculada. Foram realizadas três leituras, para cada amostra, e tirou-se a média. A concentração foi ajustada para 100 a 150 J2/mL, de cada nematoide.

Para o teste de patogenicidade, *in vitro*, foram utilizados os fungos predadores *Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides*, *A. musiformis* e *M. megalospora*.

Para detecção de fungos nematófagos foi utilizada a técnica do espalhamento de solo descrita por Barron (1977) e modificada por Santos (1991). As amostras de solos foram coletadas da rizosfera de culturas agrícolas anuais e perenes, principalmente, no estado da Bahia. Para cada amostra de solo foi retirada uma alíquota de 2 g de solo homogeneizada, em seguida, foi colocada no centro de uma placa de Petri contendo ágar-água a 2% (AA 2%). A seguir foi adicionado 1 mL de uma suspensão de NVL sobre a amostra de solo. Os nematoides, utilizados como iscas, foram coletados da tampa da placa de Petri adicionando-se em torno de 3 a 5 mL de água destilada esterilizada e transferida para Becker esterilizado (Krzyzanowski, 2006). As placas foram mantidas no escuro, à temperatura ambiente ( $20\text{-}28^\circ\text{C}$ ). Após o quinto dia em que as placas foram preparadas, deu-se início as observações. Inicialmente, as leituras das placas foram realizadas diariamente utilizando microscópio estereoscópico, por um período de 10 dias, para isolamento de fungos predadores. Depois desse período, as observações foram semanais.

Foram utilizadas 64 placas de Petri contendo meio de cultura AA 2% para testar a capacidade predatória dos fungos nematófagos. Os fungos foram repicados de cultura pura em BDA para placa de Petri com

AA2%. Após 10 dias, quando se verificou o crescimento do fungo, em toda a placa, com auxílio de uma micropipeta foi adicionado, separadamente, 1 mL de suspensão contendo de 100 a 150 juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne enterolobii*, *M. incognita* raça 1, *M. incognita* raça 3 e *Panagrellus redivivus*. Para cada espécie de nematoide foram utilizadas 16 repetições. A cada quatro repetições foram adicionados 1 mL da suspensão de juvenis de segundo estágio de *M. enterolobii*, *M. incognita* raça 1, *M. incognita* raça 3 e, *P. redivivus* usado como testemunha. Os fungos foram deixados à temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) em condições de escuro, havendo quatro repetições de cada fungo. As avaliações foram realizadas nos intervalos de 24, 48 e 72 horas, separando os nematoides mortos naturalmente dos mortos predados pelo fungo. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições (uma placa/repetição). Foi avaliada a variável porcentagem de fitonematoides predados diariamente, durante 24, 48 e 72 horas. Para análise estatística foi realizada comparação de médias pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

#### Preservação das cepas fúngicas

Os fungos nematófagos que se mostraram mais virulentos foram armazenados em diferentes meios de preservação, tais como: tubos de ensaio com meio BDA (batata-dextrose-ágar) inclinado recoberto com óleo mineral; tubos de ensaio apenas com meio BDA inclinado; terra esterilizada e água esterilizada.

Em tubos de ensaio com meio inclinado de BDA foi realizado a partir da cultura pura do fungo, em placa de Petri contendo BDA colonizado, transferiu-se um disco com 1 cm de diâmetro do meio retirando-o da borda da cultura e transferiu para tubos de ensaio contendo meio tipo BDA. Os tubos foram mantidos à temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ), no escuro, até a colonização do meio.

Em tubos de ensaio com meio inclinado de BDA e recoberto com óleo mineral, o procedimento adotado foi o mesmo citado, anteriormente, sendo recoberto por óleo mineral esterilizado.

Para a esterilização do óleo mineral foi adotado o procedimento de autoclavagem à  $120^\circ\text{C}$  e 1 atm. por 30 minutos seguida de secagem à  $150^\circ\text{C}$  em estufa.

Em terra esterilizada foram utilizados frascos tipo penicilina com 1/3 do volume preenchido com solo. Os frascos, já com o solo, foram autoclavados à  $120^\circ\text{C}$  e 1 atm. por uma hora. Após repousar 24 h, a autoclavagem foi repetida por mais uma hora. Em seguida, foram adicionados cinco discos com 1 cm de diâmetro de cultura pura dos fungos aos frascos. Em seguida, foi adicionado 1 mL da suspensão concentrada do NVL e vedados com parafilm e mantidos à temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ), no escuro, em média por cinco dias, para crescimento do fungo.

No caso de preservação em água destilada, foram utilizados o mesmo modelo de frasco, tipo penicilina, porém preenchidos até 1/3 de sua capacidade, com água destilada esterilizada, onde também foram adicionados cinco discos com 1 cm de diâmetro de cultura pura dos fungos e armazenados em BOD (Castellani, 1939).

## Resultados e Discussão

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

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

Para *M. enterolobii* foram: *Arthrobotrys oligospora* em 32,5%, *A. conoides* em 46,25%, *A. musiformis* em 53,7% e *M. megalospora* em 52,5%.

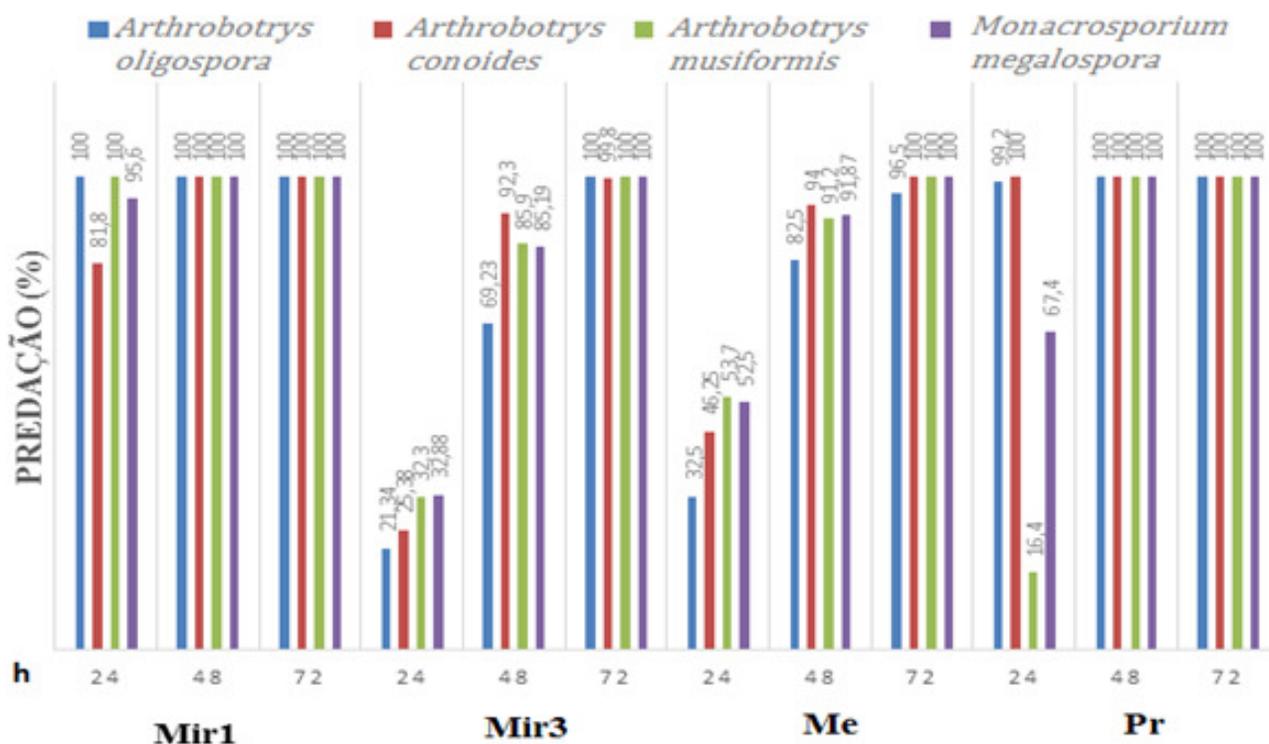


Figura 1 - Porcentagem de predação de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* raça 1 (Mir1), *Meloidogyne incognita* raça 3 (Mir3), *Meloidogyne enterolobii* (Me) e *Panagrellus redivivus* (Pr) após 24, 48 e 72 horas de inoculação.

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

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

No teste de comparação de médias Tukey com 5% de probabilidade, observou-se que a predação por *A. oligospora*, *A. musiformis* e *M. megalospora*

no período de 24 horas, para juvenis de segundo estágio de *M. incognita* raça 1, não diferiu significativamente entre si, porém diferiu de *A. conoides*, mostrando alta eficiência de predação. No período de 48 horas não houve diferença significativa entre as espécies fúngicas, onde estas predaram 100% dos juvenis de *M. incognita* raça 1 (Tabela 1). Almeida et al. (2014) observaram a capacidade predatória média de espécies fúngicas à *M. incognita* raça 1 em quatro dias, e constataram que o fungo *A. conoides* apresentou uma porcentagem de predação mais baixa (44,3%), quando comparado à maioria dos isolados, *A. oligospora* (73,2%), *A. musiformis* (90,4%).

No período de 24 horas não houve diferença significativa entre o número de nematoides da espécie *M. incognita* raça 3 predados pelos fungos (Tabela 2). Porém no período de 48 horas os táxons *A. conoides*, *A. musiformis* e *M. megalospora* não diferiram entre si e esta última não diferiu de *A. oligospora*. No período de 72 horas não houve diferença significativa entre os fungos, pois todos haviam predado 100% dos juvenis.

Tabela 1 - Comparação entre médias acumuladas de números juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* raça 1 predados após o período de 24, 48 e 72 horas de inoculação

Tempo	<i>Monacrosporium megalospora</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys conoides</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>
	PREDAÇÃO			
NNP24	191,25 a	200,00 a	163,75 b	200,00 a
NNP48	200,00 a	200,00 a	200,00 a	200,00 a
NNP72	200,00 a	200,00 a	200,00 a	200,00 a
<b>MÉDIA</b>	<b>197,08</b>	<b>200</b>	<b>187,91</b>	<b>200</b>

Para cada variável as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula da linha, não diferem significativamente pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Legenda: NNP24: número de nematoides predados em 24 horas; NNP48: número de nematoides predados em 48 horas; NNP72: número de nematoides predados em 72 horas.

Tabela 2 - Comparação entre médias acumuladas de números juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* raça 3 predados após o período de 24, 48 e 72 horas de inoculação

Tempo	<i>Monacrosporium megalospora</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys conoides</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>
	PREDAÇÃO			
NNP24	42,75 a	27,75 a	33,00 a	42,00 a
NNP48	110,75 ab	90,00 b	120,00 a	111,75 a
NNP72	130,00 a	130,00 a	106,75 a	130,00 a
<b>MÉDIA</b>	<b>94,5</b>	<b>82,58</b>	<b>86,58</b>	<b>94,58</b>

Para cada variável as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula da linha, não diferem significativamente pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Legenda: NNP24: número de nematoides predados em 24 horas; NNP48: número de nematoides predados em 48 horas; NNP72: número de nematoides predados em 72 horas.

Observou-se que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade nas médias de predação de juvenis de segundo estágio de *M. enterolobii* pelos fungos estudados, *A. oligospora*, *A. musiformis*, *M. megalospora* e *A. conoides* no tempo de 48 horas. Ao comparar as médias de predação entre os fungos, evidenciou-se que *A. oligospora* difere dos demais utilizados, mostrando menor eficiência em relação aos outros no período de 48 horas após a inoculação. Após 72 horas de inoculação houve 100% de predação dos juvenis pelos fungos estudados (Tabela 3).

A comparação de médias mostrou que no período de 24 horas não houve diferença significativa entre *A. conoides* e *A. oligospora*, predando respectivamente em média 200 e 198 juvenis de *P. redivivus* (Tabela 4). No período de 48 horas não verificou-se diferença significativa entre os fungos, pois houve predação de 100% de juvenis,

independente da espécie fúngica. Em testes *in vitro* realizados por Putzke et al. (2007) ocorreu 97% de predação por fungos nematófagos, entre outros. Este nematoide tem sido usado como “isca” em testes de laboratório (Soares, 2006).

Para todos os fungos avaliados houve uma alta taxa de predação, mostrando que o nematoide-de-vida-livre, *P. redivivus*, é suscetível a todos os fungos testados neste estudo. A suscetibilidade de *P. redivivus* foi detectada e relatada por vários pesquisadores (Dalla Pria; Ferraz 1996; Gomes, Araújo, Ribeiro, 1999; Ribeiro et al., 1999; Silveira (Maia), Santos, Di Mauro, 2001).

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

Tabela 3 - Comparação entre médias acumuladas de números juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne enterolobii* predados após o período de 24, 48 e 72 horas de inoculação

Tempo	<i>Monacrosporium megalospora</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys conoides</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>
	PREDAÇÃO			
NNP24	42,25 a	26,25 c	37,00 b	43,00 a
NNP48	73,50 a	66,00 b	75,25 a	73,00 a
NNP72	80,00 a	77,25 a	80,00 a	80,00 a
<b>MÉDIA</b>	<b>65,25</b>	<b>56,5</b>	<b>64,08</b>	<b>65,33</b>

Para cada variável as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula da linha, não diferem significativamente pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Legenda: NNP24: número de nematoides predados em 24 horas; NNP48: número de nematoides predados em 48 horas; NNP72: número de nematoides predados em 72 horas.

Tabela 4 - Comparação entre médias acumuladas de números de *Panagrellus redivivus* predados após o período de 24, 48 e 72 horas de inoculação

Tempo	<i>Monacrosporium megalospora</i>	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	<i>Arthrobotrys conoides</i>	<i>Arthrobotrys musiformis</i>
	PREDAÇÃO			
NNP24	134,75 b	198,5 a	200,00 a	32,75 c
NNP48	200,00 a	200,00 a	200,00 a	200,00 a
NNP72	200,00 a	200,00 a	200,00 a	200,00 a
<b>MÉDIA</b>	<b>178,25</b>	<b>199,5</b>	<b>200</b>	<b>144,25</b>

Para cada variável as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula da linha, não diferem significativamente pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Legenda: NNP24: número de nematoides predados em 24 horas; NNP48: número de nematoides predados em 48 horas; NNP72: número de nematoides predados em 72 horas.

### Conclusões

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

Nas condições em que a pesquisa foi realizada, *A. musiformis* se mostrou mais virulento contra os fitonematoides

### Literatura Citada

ALMEIDA, S. M. V. et al. 2014. Fungos nematófagos da rizosfera de *Heliconia* como potenciais antagonistas à *Rotylenchulus reniformis*. *Agrotrópica* (Brasil) 26:51-60.

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

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

BERNARDO, E. R. A.; SANTOS, J. M. 2004. Patogenicidade *in vitro* de *Monacrosporium robustum* a *Rotylenchulus reniformis*. *Ciência Rural* (Brasil) 34(4):1239-1241.

CARNEIRO, G. D. M. R. 1992. Princípios e tendências do controle biológico de nematoides com fungos nematófagos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 27:113-121.

CASTELLANI, A. 1939. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, Baltimore 24:270-276.

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

- COFECWICZ, E. T. et al. 2004. Reação de cultivares de bananeira a diferentes espécies de Nematoides de Galhas. *Nematologia Brasileira* 28(1):11-22.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station. 77p.
- CORDEIRO, M. C. R. et al. 2008. Identificação molecular de nematoides de Galhas *Meloidogyne* spp. Embrapa Cerrado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento n. 219. 30p.
- DALLA PRIA, M.; FERRAZ, S. 1996. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* raça 3, por seis espécies de *Monacrosporium*, isoladas ou combinadas com *Verticillium chlamydosporium*. *Fitopatologia Brasileira* 21(1):30-34.
- FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; ALMEIDA, S. A. 1999. Controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro pela produção de mudas em substrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. *Nematologia Brasileira* 23(1):65-73.
- GALLO, D. et al. 2002. Entomologia agrícola. Piracicaba, SP, FEALQ. 920p.
- GOMES, A. P. S.; ARAÚJO, J. V.; RIBEIRO, R. C. F. 1999. Differential *in vitro* pathogenicity of predatory fungi of genus *Monacrosporium* phytonematodes, free-living nematodes and parasitic nematodes of cattle. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, (Brasil) 32(1):79-83.
- KERRY, B. R. 1987. Biological control. In: Brown, R. H.; Kerry, B. R. Principles and practice of nematode control in crops. London, Academic Press. pp.233-263.
- KRZYZANOWSKI, A. A. 2006. Controle biológico de nematoides de galha do cafeeiro com fungos nematófagos Tese Doutorado. Jaboticabal, SP, FCAVJ. 60p.
- LOPES, E. A. et al. 2007. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira* 31(2):78-84.
- 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(2):40-47.
- SANTOS, M. A. 1991. Detecção, identificação e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos do Brasil. Dissertação Mestrado. Viçosa, MG, UFV. 97p.
- SANTOS, M. A. 1996. Estudo de alguns fungos endoparasitos e predadores no controle de fitonematoides. Tese Doutorado. Viçosa, MG, UFV. 166p.
- SILVEIRA (MAIA), A. J. 2001. Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*. Tese Doutorado. Jaboticabal, SP, FCAJ. 117p.
- SILVEIRA (MAIA), A. J.; SANTOS, J. M. dos; DI MAURO, A. 2001. O. Estudo *in vitro* da habilidade predatória de *Monacrosporium robustum* sobre *Heterodera glycines*. *Fitopatologia Brasileira* 26(4):732-736.
- SOARES, P. L. M. 2006. Estudo do controle biológico de fitonematoides com fungos nematófagos. Tese Doutorado. Jaboticabal, SP, UNESP/FCAVJ. 217p.
- TIHOHOD, D. 1993. *Nematologia Agrícola Aplicada*. Jaboticabal, SP, FUNEP. 372p.
- VALIENTE, A. R.; ALVAREZ, E.; SANTANDER, V. M. 1990. Assessment of yield losses due to root-knot nematode species in soybean. *International Nematology Network Newsletter*, Raleigh 7(1):42-43.

