



Seleção de Isolados de *Pisolithus* sp. Tolerantes ao Cupinicida Imidacloprid⁽¹⁾.

Lídia Alves Antunes⁽²⁾; Leandro Alves Macedo⁽³⁾; Paulo Henrique Graziotti⁽⁴⁾; Aline Ferreira Rocha⁽⁵⁾, Débora Cíntia Avelar⁽⁶⁾, Carla Ragonezi⁽⁷⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da CAPES, CNPq e UFVJM.

⁽²⁾ Mestranda, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, Minas Gerais; li_antunesvco@hotmail.com; ⁽³⁾ Estudante de graduação, UFVJM; ⁽⁴⁾ Professor Doutor Associado II, UFVJM; ^(5,6) Mestranda, UFVJM; ⁽⁷⁾ Pós-doutoranda, UFVJM.

RESUMO: Os fungos ectomicorrízicos (FEM) possibilitam o aumento da absorção de água e nutrientes pelas plantas, proporcionam maior tolerância à toxidez e à patógenos do solo, e auxiliam na formação radicular. Isto pode ajudar no estabelecimento e desenvolvimento de mudas no campo. No entanto, o ataque de cupins tem causado destruição deste sistema. No entanto, cupinidas inibem algumas espécies de fungos entomopatogênicos e de bactérias fixadoras de nitrogênio. Assim, para o estabelecimento de um programa de inculação de FEM em viveiros comerciais de eucalipto faz-se necessário avaliar o efeito de cupinidas sobre o crescimento e sobrevivência desses fungos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância de isolados de *Pisolithus* sp. ao cupinicida imidacloprid. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente ao acaso em um esquema fatorial 7x3, constituído dos isolados D5, D17, D95, D29, D10, D15 e D63 de *Pisolithus* sp. imersos em solução do cupinicida imidacloprid nos tempos de 0 (controle), 30 e 60 segundos, com 5 repetições. Discos de 5 mm foram imersos na solução do cupinicida e colocados para crescer à 25°C por 7 dias em meio de cultura sólido MNM. O crescimento foi avaliado pelo diâmetro radial das colônias. Os isolados diferiram em relação ao crescimento, mesmo pertencendo ao mesmo gênero. Os isolados D10 e D15 foram os mais tolerantes ao imidacloprid no tempo utilizado comercialmente de imersão de 30 e os isolados D10, D95, D87 e D17 foram os mais tolerantes no tempo de imersão de 60 segundos.

Termos de indexação: ectomicorriza, eucalipto e biocidas.

INTRODUÇÃO

Os fungos ectomicorrízicos (FEM) têm importante função na manutenção dos ecossistemas. Possibilitam o aumento do volume de solo explorado pelas raízes, aumentam a absorção de água e nutrientes, especialmente

aqueles com baixa mobilidade no solo, contribuem para sustentabilidade das florestas plantadas (Souza et al., 2004) e proporcionam maior tolerância a condições de toxidez e a patógenos do solo, maior resistência a temperaturas elevadas e extremos de pH, aumentam a longevidade de raízes e a produção de massa seca (Marx & Cordell, 1989; Smith & Read, 1997; Graziotti et al., 2003; Allen, 1991; Souza et al., 2004).

Esta associação entre FEM e espécies arbóreas é comum em eucalipto. Entre os FEM encontrados nos plantios comerciais na região sudeste do Brasil, o *Pisolithus* está entre aqueles com maior ocorrência. Diversos trabalhos observaram a capacidade de isolados deste gênero de promoverem o crescimento de mudas de eucalipto inoculadas (Alves et al., 2001; Silva et al. 2007; Souza et al., 2008).

Devido à grande demanda de madeira e a dificuldade de expansão das florestas plantadas causadas pelas dificuldades financeiras, políticas e ambientais (Alvarenga, 1994), tem surgido à necessidade de tecnologias que melhorem a produtividade (Alves et al., 2001). Dentre estas tecnologias, a inoculação de FEM pode ser uma alternativa. Para a utilização destes fungos, faz-se necessário conhecer o efeito dos biocidas sobre os mesmos, pois na maioria das florestas plantadas esses produtos são usados para evitar os prejuízos causados por pragas e doenças.

A boa formação do sistema radicular das mudas de eucalipto tem grande importância para o estabelecimento e desenvolvimento destas mudas no campo (Vomero, 2010). Entretanto, o ataque de cupins tem causado destruição do sistema radicular e secamento das mudas, sendo que esse ataque ocorre a partir da primeira semana até a idade de dois anos após plantio (Silva et al., 2008). O ataque desta praga pode causar até 70 % de mortalidade das mudas transplantadas (Wilcken et al., 2002).

O controle deve ser preventivo, com a imersão das mudas numa calda de cupinicida durante trinta segundos, encharcando todo o sistema radicular e o caule das mudas até o nível das



primeiras folhas. O produto vem na forma de pó e é adicionado à água, na dosagem recomendada pelo fabricante do produto comercial (Silva et al., 2008). A imersão das mudas em solução de cupinicida tem as vantagens de reduzir o custo de controle, uso de menor quantidade de inseticida aplicado no solo e maior rendimento do tratamento. Os princípios ativos registrados para o controle dos cupins são: fipronil (0,50 % p.c.), imidacloprid (0,50 a 0,75 % p.c.) e o thiamethoxam (0,3 % p.c.) (Wilcken et al., 2002).

Os cupinicidas imidacloprida, fipronil e thiamethoxam podem inibir o crescimento de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e da bactéria fixadora de nitrogênio *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Moino & Alves, 1998; Soares, 2011; Fernandes et al., 2013).

Apesar, de não existirem registros do efeito de cupinicidas sobre FEM, estes podem ser inibidos por diversos biocidas. O *Pisolithus tinctorius* teve seu crescimento reduzido em meio sólido a partir de 1 mg L⁻¹ dos herbicidas triclopyr, glyphosate, hexazinone e 2,4-D, sendo completamente inibido na concentração de 5.000 mg L⁻¹. No entanto, o crescimento do *Hebeloma longicaudum* foi inibido em 100% na concentração de 1.000 mg L⁻¹ dos herbicidas triclopyr e 2,4D, enquanto que os demais herbicidas inibiram o crescimento em 55 % na concentração de 100 mg L⁻¹ (Estok et al., 1989). O isolado de *Pisolithus* sp. teve seu crescimento em meio de cultura sólido reduzido em 59 % na menor concentração (50 mg L⁻¹) de glyphosate e completamente inibido na mesma concentração para oxyfluorfen (Paula Jr et al., 1995). O crescimento de *P. tinctorius* diminuiu em meio sólido com 1 mg L⁻¹ de hexazinone (Kelley et al., 1980). Os isolados de *Pisolithus* sp. submetidos à diferentes concentrações de glyphosate em meio líquido (0, 32, 63, 127 e 254 mg L⁻¹) e em meio sólido (0, 32, 63, 127, 254, 507 e 1.014 mg L⁻¹), tiveram crescimento reduzido com o aumento das concentrações (Fernandes et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância de isolados de *Pisolithus* sp. ao cupinicida imidacloprid.

MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de *Pisolithus* sp. estudados foram: D5, D17, D95, D216, D29, D10, D15, D63. Estes pertencem a coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFVJM e foram obtidos de frutificações colhidas em plantações de *Eucalyptus* sp. no Alto Jequitinhonha-MG.

A partir de culturas dos isolados crescidas por 29 dias à 25 °C em meio de cultura sólido Melin-Norkrans modificado (MNM) (Marx, 1969) foram retirados discos de 5 mm de diâmetro das bordas

das colônias de cada isolado. Em seguida transferiram-se os discos para placas de Petri contendo o mesmo meio e incubados por mais três dias sob as mesmas condições para permitir a recuperação do micélio danificado durante a repicagem, confirmar a viabilidade e comprovar a ausência de contaminações. Este procedimento inicial foi realizado em todos os ensaios.

O cupinicida utilizado foi o imidacloprid (Evidence 700 wg[®] - Bayer[®]) na dose de 7,5 g L⁻¹ de água. Este cupinicida possui classificação toxicológica IV e ambiental III.

Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente ao acaso em um esquema fatorial 7x3, constituído dos isolados D5, D17, D95, D29, D10, D15 e D63 de *Pisolithus* sp. imersos em solução do cupinicida imidacloprid nos tempos de 0 (controle), 30 e 60 segundos, com 5 repetições. Após imersos, os discos dos isolados foram colocados em meio de cultura MNM sólido em placas de Petri e colocados em incubadora à 25°C, no escuro por 15 dias. O crescimento radial das colônias dos isolados foi avaliado aos sete dias, pela média de dois diâmetros da colônia obtidos em duas direções diferentes.

Análise estatística

Após análise de variância, as médias dos diâmetros foram avaliadas pelo teste de Skott Knot ao nível de significância de 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento radial das colônias dos isolados D10 e D15 foi maior que o controle no tempo de 30 segundos ($p < 0,05$) (fig. 1). O crescimento do micélio do D10 aumentou 66,5 % e do D15 em 66,6 % quando os discos foram imersos na solução de cupinicida por 30 segundos quando comparado com o controle (Fig. 1). Contudo, para os demais isolados, o crescimento das colônias não foi influenciado pela imersão deste nas soluções de cupinicidas por 30 segundos (Fig. 1). A imersão por 60 segundos dos discos de todos os isolados na solução do cupinicida não influenciou o crescimento micelial (Fig. 1). Considerando o crescimento dos discos de todos os isolados imersos por 30 segundos na solução, os isolados D10 e D15 cresceram mais ($p < 0,05$) (Fig. 1). Estes isolados podem ter metabolizado e usado o cupinicida como fonte de energia ou fatores de crescimento. Já no tempo de imersão de 60 segundos os isolados que mais cresceram foram o D95 e o D87 ($p < 0,05$) (Fig. 1). Considerando que o D10 esteve entre os que mais cresceram nos dois tempos de imersão dos

discos de micélio na solução de cupinicida, isto demonstra maior tolerância desse isolado.

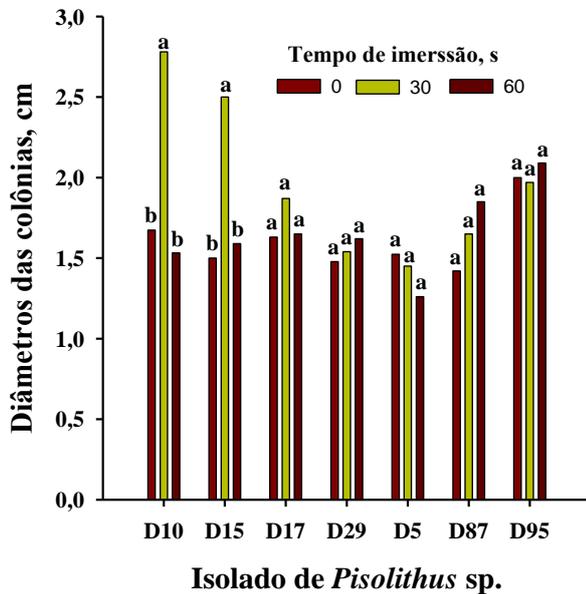


Figura 1 – Diâmetros das colônias de isolados de *Pisolithus* sp. crescidos por 7 dias em meio MNM modificado após a imersão em solução de cupinicida por 30 e 60 segundos e não imersos. Para cada isolado, em barras seguidas da mesma letra não houve diferença ao nível de significância de 5% pelo teste de Skott Knot.

CONCLUSÕES

Os isolados diferiram em relação ao crescimento, mesmo pertencendo ao mesmo gênero.

Os isolados D10 e D15 foram os mais tolerantes ao cupinicida imidacloprid no tempo comercial de imersão de 30 segundos.

Considerando os dois tempos de imersão o D10 foi o mais tolerante.

AGRADECIMENTOS

À UFVJM, à FAPEMIG, CNPq e CAPES.

REFERÊNCIAS

- ABRAF. Anuário Estatístico da ABRAF: ano base 2012/ABRAF, 145, 2013.
- ALVARENGA, R. M. Reserva legal e mudanças. Silvicultura, São Paulo, 55: 40-41, 1994.
- ALVES, J.R.; SOUZA, O.; PODLECH, P.A.S.; GIACHINI, A.J.; OLIVEIRA, V.L. Efeito de inoculante ectomicorrízico produzido por fermentação semi-

sólida no crescimento de *Eucalyptus dunnii* Maiden. Pesq. Agropec. Brás., 36:307-313, 2001.

CAMPOS, D.T.S.; SILVA, M.C.S.; LUZ, J.M.R.; TELESFORA, R.J.; KASUYA, M.C.M. Colonização micorrízica em plantios de eucalipto. Rev. Árvore, 35: 965-974, 2011.

CULDIN, P., MEJSTRIK, V., SKOUPY, J. Effects of pesticides on ectomycorrhizae of *Pinus sylvestris* seedlings. Plant Soil, 17:353-361, 1983.

ESTOK, D; FREEDMAN, B; BOYLE, D. Effects of the Herbicides 2,4-D, Glyphosate, Hexazinone, and Triclopyr on the Growth of Three Species of Ectomycorrhizal Fungi. Environmental Contamination and Toxicology, 42:835-839, 1989.

FERNANDES, M.F.; PROCÓPIO, S.O.; TELES, D.A.; SENA FILHO, J.G.; CARGNELUTTI FILHO, A.; ANDRADE, C.R. Crescimento e fixação biológica de nitrogênio de *Gluconacetobacter diazotrophicus* na presença de inseticidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar. Rev. Cienc. Agrar. 56:12-18, 2013.

FONSECA, J. A. & MEURER, E. J. Inibição da absorção de magnésio pelo potássio em plântulas de milho em solução nutritiva. Rev. Brás. Ciên. Solo, 21:4-50, 1997.

GRAZZIOTTI, P.H.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso de metais pesados. Tópicos Ci. Solo. Viçosa: SBCS, 3:55-105, 2003.

ILOBA, C. The influence of 2,4-D on ectomycorrhizal symbiosis in pine and spruce seedlings. Eur. J. Forest Pathol, 8:379-383, 1978.

KELLEY, W.D.; SOUTH, D.B. Effects of herbicides on in vitro growth of mycorrhizae of pine (*Pinus* spp.). Weed Sci., 28:599-602, 1980.

MARX, D.H.; CORDELL, C.E. The use of specific ectomycorrhizas to improve artificial forestation practices. In: WHIPPS, J.M.; LUMSDEN, R.D. Biotechnology of fungi for improving plant growth. New York: Cambridge Univ. Press., 1-25, 1989.

MOINO JR, A.; ALVES, S.B. Efeito de Imidacloprid e Fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no Comportamento de Limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). Soc. Entomol. Brasil, 1998.

PAULA JR, T.J., COMERLATO, A.G., GAVASSONI, W.L., OLIVEIRA, V.L., ZAMBOLIM, L. Efeito de glifosato e oxyfluorfen sobre *Pisolithus tinctorius* e sobre a micorrização de raízes de *Eucalyptus grandis*. Rev. Árvore, 241-248, 1995.

SILVA, J.C.; CASTRO, V.R.; XAVIER, B.A. Cartilha do fazendeiro florestal. Viçosa, Minas Gerais. Viçosa: UFV, 14-15, 2008.



SILVA, M.A.; COSTA, M.D.; ROCHA, R.B.; BORGES, A.C. Formação de ectomicorrizas por monocários e dicários de *Pisolithus* sp. e interações nutricionais em *Eucalyptus grandis*. Rev. bras. Ciên. Solo, 31: 917-929, 2007.

SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, 605, 1997.

SOARES, F.B. Impacto de fungicidas e inseticidas na densidade populacional de *Beauveria bassiana* no solo sob efeito da microbiota nativa. Jabotocabal: UNESP, 2011. Dissert. (Mestrado em Microbiologia agropecuária).

SOUZA, L.A.; BONNASSIS, P.A.P. SILVA FILHO, G.N.; OLIVEIRA, V.L. New isolates of ectomycorrhizal fungi and the growth of eucalypt. Pesq. Agropec. Bras., 43:235-241, 2008.

SOUZA, L.A. B.; SILVA FILHO, G.N.; OLIVEIRA, V.L. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção do crescimento de eucalipto. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, 39:349-355, 2004.

VOMERO, P.A.S.Z. Efeito da imersão de mudas com fertilizante e Cupinicida no crescimento de dois clones de eucalipto sob duas condições de umidade no substrato. Botucatu: UNESP, p.5, 2010. Dissert. (Mestrado em Ciências Florestais).

TRAPPE, J.M.; MOLINA, R; CASTELLANO M. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhizal formation to pesticides. Ann. Rev. Phytopathol. Ann. rev. phytopathol., 22:331-359, 1984. Ann. rev. phytopathol.

WILCKEN, C. F., RAETANO, C.G., FORTI, L.C. Termites in Eucalyptus forests of Brazil. Sociobiology, 40:179-190, 2002.