

CONTROLE ALTERNATIVO SOBRE *Meloidogyne incognita* EM SOJA

Marlon Henrique Hahn^{1*}; Odair José Kuhn¹; José Renato Stangarlin¹;
Edilaine Della Valentina Gonçalves¹; Marta Inês Ferreira da Cruz¹;
Nicanor Pilarski Henkemeier¹; Omari Dangelo Forlin Dildey¹

SAP 8-PV Data envio: 15/08/2014 Data do aceite: 02/10/2014
Scientia Agraria Paranaensis – SAP; ISSN: 1983-1471
Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. suplemento, dez, p. 281-285, 2015

RESUMO - O controle alternativo oferece uma opção ambientalmente segura e ecologicamente viável no manejo de fitopatógenos. Considerando a grande importância dos nematoides na cultura da soja, objetivou-se avaliar a eficácia de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne incognita* nesta cultura. O delineamento experimental foi de blocos casualizados com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus*, *Coprinus comatus*, mistura de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus*, além de plantas testemunhas inoculadas com *M. incognita* e sem tratamento. Foram avaliados o número de ovos e de juvenis de segundo estágio (J2) no solo e nas raízes, o número de galhas e o fator de reprodução (FR). Não se observou diferença entre os tratamentos para ovos e J2 no solo e nas raízes, galhas e FR. O tratamento com *P. chlamydosporia* reduziu o número de J2 por grama de raiz. Assim, é possível concluir que o isolado de *P. chlamydosporia* tem potencial para controle de *M. incognita* em soja.

Palavras-chave: *Glycine max*; nematoide de galhas; fungos nematófagos; *Pochonia chlamydosporia*.

Alternative control of Meloidogyne incognita in soybean

ABSTRACT - The alternative control is an environmentally safe and ecologically viable option for controlling plant pathogens. Considering the great importance of nematodes in soybean, this study aimed to evaluate the efficacy of nematophagous fungi against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in soybean. The experimental design was in randomized blocks, with five treatments and four replicates. The treatments were *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus*, *Coprinus comatus*, a mixture of *P. chlamydosporia* and *P. lilacinus*, and control plants inoculated with *M. incognita* and without treatment. We evaluated number of eggs and second stage juveniles (J2) in soil and roots, number of galls and reproduction factor (RF). There were no differences among the treatments and the control plants for number of eggs and J2 in soil and roots, number of galls and RF. The *P. chlamydosporia* treatments caused the reduction of the number of J2 in roots. Thus, was possible to conclude that *P. chlamydosporia* has potential to control *M. incognita* in soybean plants.

Key words: *Glycine max*; root-knot nematode; nematophagous fungi; *Pochonia chlamydosporia*.

INTRODUÇÃO

Na safra de 2011/2012, os municípios produtores de soja da Região Oeste do Paraná responderam por aproximadamente 21% da produção estadual, cerca de 3,4 milhões de toneladas em uma área de 949,5 mil hectares (DERAL/SEAB, 2013). A produtividade da soja na Região Oeste do Paraná é elevada, mas à muito tempo são observadas grandes perdas na produção em decorrência de fitonematoides comuns na cultura da soja (ROESE et al., 2001; FRANZENER et al., 2005).

A espécie de fitonematoides *Meloidogyne incognita* é prejudicial a muitas espécies vegetais de interesse econômico no mundo, sendo predominantemente encontrada infectando espécies tropicais de Fabaceae, causando grandes danos econômicos (ANWAR; MCKENRY, 2010). A doença ocorre pela penetração de juvenis de segundo estágio no interior das raízes, onde penetram o estilete para se alimentar (AGRIOS, 2005; CAILLAUD et al., 2008). Após três dias do estabelecimento do nematoide, é observada a formação das células de alimentação (AGRIOS, 2005) formadas pelas sucessivas divisões nucleares, que as tornam multinucleadas poliploides e repletas de organelas (CAILLAUD et al., 2008). A hiperplasia e hipertrofia das células, leva à formação de galhas radiculares típicas da infecção por *M. incognita*.

Visando a máxima produtividade da cultura soja, os produtores lançam mão de diferentes métodos de controle para nematoides (ALMEIDA et al., 2008) com o objetivo de reduzir a população a níveis inferiores ao nível de dano da cultura (CARNEIRO, 1992), contudo, o controle de nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. é dificultado pela baixa eficiência dos agentes de controle sobre os nematoides (ANTES, 2008).

A estratégia de controle a ser aplicada deve levar em consideração a espécie de nematoide fitoparásita mais abundante na área de cultivo (ANTES, 2008), aplicabilidade do manejo que deverá ser praticado pelo agricultor (BALDIN et al., 2012), toxicidade ao meio ambiente e aos seres vivos (CADIOLLI et al., 2007; NUNES et al., 2010), e viabilidade econômica (BALDIN et al., 2012). Assim, muitas são as estratégias que podem ser utilizadas no controle de nematoides, dentre as principais estão, rotação de culturas, utilização de cultivares resistentes, produtos químicos com ação nematocida, controle biológico e controle alternativo.

Muitas vezes, o uso de defensivos químicos é o método mais utilizado no controle de fitonematoides, devido à facilidade de obtenção e utilização, porém, a pressão social contra o uso indiscriminado desses pesticidas químicos, e sua substituição por métodos de controle com menor toxicidade ao ser humano e ao ambiente (ALMEIDA et al., 2008). Desta forma, o controle alternativo se torna atrativo, pois, é menos agressivo, mas ao mesmo tempo eficiente e viável economicamente (CADIOLLI et al., 2007; CADIOLLI et al., 2009; AMARAL et al., 2009; NUNES et al., 2010).

Muitos trabalhos de pesquisa (BAILEY et al., 2008; CADIOLLI et al., 2007; CADIOLLI et al., 2009; CARNEIRO, 1992; KOK et al., 2001; LUO et al., 2007)

vêm avaliando a influência da utilização de fungos nematófagos e metabólitos secundários de plantas sobre a microbiota do solo, assim, objetivou-se com este trabalho, avaliar a eficácia de fungos nematófagos no controle de *M. incognita* parasitando plantas de soja em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação no Núcleo de Estações Experimentais - NEE da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná, no período entre 15 de outubro de 2013 ao dia 2 de janeiro de 2014. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados, composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus*, *Coprinus comatus* e uma mistura de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus*, além de plantas testemunhas inoculadas com *M. incognita* sem qualquer um dos agentes de controle.

As plantas de soja foram cultivadas em vasos de 2 (dois) litros, contendo substrato composto por Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 2006), areia e húmus de minhoca (3:3:1 v:v:v) previamente autoclavado a 120 °C por 90 min. O cultivar V-MAX RR foi semeado no dia 18 de outubro de 2013, sendo o desbaste das plantas excedentes realizado no estágio fenológico V1. A inoculação foi realizada no dia seguinte ao desbaste, em cavidades com 2 cm de profundidade, a uma distância de 2 cm do colo de cada planta, resultando em 1500 juvenis de segundo estágio (J2) inoculados por vaso.

Três dias após a inoculação dos nematoides, foi realizada a aplicação dos tratamentos. Realizou-se a aplicação líquida dos fungos *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus* em 50 mL de suspensão calibrada com 2×10^8 clamidósporos mL⁻¹. O fungo *C. comatus* foi aplicado na forma micelial cultivada em meio de cultura MEA (ágar-extrato de malte), introduzindo 3 discos (15 mm) em cavidades de 2 cm de profundidade. Posteriormente foi realizado o molhamento com 50 mL de água por vaso para os tratamentos com *C. comatus* e testemunhas.

As avaliações iniciaram no estágio fenológico R4 da cultura da soja (02/01/2014), sendo avaliado o número de J2 e ovos no solo e raízes, além do número de galhas radiculares na cultura. A primeira etapa dos procedimentos foi o destorroamento do sistema radicular, sendo o sistema radicular totalmente triturado junto a 300 mL de água em um liquidificador doméstico de alta rotação por 15 segundos. As suspensões de raízes foram peneiradas em um conjunto de peneiras de 20, 48 e 400 Mesh.

A extração de nematoides do solo foi realizada em um Becker com capacidade de 2 L, sendo adicionado uma amostra de solo de 100 cm³ junto a 500 mL de água, desestruturando os grumos do solo, gerando uma suspensão líquida. As suspensões de solo e raízes retidos na peneira de 400 Mesh foram coletadas e submetidos à flotação centrífuga em sacarose segundo metodologia proposta por Jenkins (1964). A contagem de ovos e J2 foram realizadas em câmara de Peters em microscópio óptico.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors, sendo então transformados para $\sqrt{(x+0,1)}$ e submetidos à ANOVA, com as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro com auxílio do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias resultantes da avaliação das variáveis relacionadas ao número de juvenis contidos nas amostras de solo e raiz foram expressas na Tabela 1. Para as variáveis juvenis no solo (J2s), juvenis das raízes (J2r) e juvenis totais (J2t), não ocorreram diferenças entre os tratamentos (Tabela 1). Ocorreram diferenças entre as médias dos diferentes tratamentos para juvenis por grama de raiz (J2r MFr⁻¹) (Tabela 1).

TABELA 1. Efeito do controle alternativo de nematoides sobre a densidade populacional de juvenis no solo (J2s), juvenis nas raízes (J2r), juvenis totais (J2t) e juvenis por grama de raiz (J2r/MFr) em plantas de soja inoculadas ou não com *M. incognita* e cultivadas em casa-de-vegetação em Marechal Cândido Rondon, PR no ano agrícola de 2013/2014.

Tratamentos	J2s		J2r		J2t		J2r MFr ⁻¹	
	-----Juvenis totais-----							
Ti	238,25	a	1324,13	a	3706,63	a	72,40	a
Pc	201,75	a	605,63	a	2623,13	a	31,77	b
Pl	173,50	a	1082,38	a	2817,38	a	48,56	ab
PcPl	421,00	a	1211,25	a	5421,25	a	64,52	ab
Cc	470,50	a	1293,88	a	5998,88	a	61,15	ab
CV (%)	29,79		18,01		22,76		16,93	
Média	301,00		1103,45		4113,45		55,68	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias transformadas para $\sqrt{(x+0,1)}$. Ti: testemunha inoculada; Pc: suspensão de conídios de *P. chlamydosporia*; Pi: suspensão de conídios de *P. lilacinus*; PcPi: suspensão de conídios de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus*; Cc: micélio de *C. comatus*.

TABELA 2. Efeito do controle alternativo de nematoides sobre a densidade populacional de ovos no solo (Os), ovos nas raízes (Or), ovos totais (Ot) e ovos por grama de raiz (Or/MFr) em plantas de soja inoculadas ou não com *M. incognita* e cultivadas em casa-de-vegetação em Marechal Cândido Rondon, Pr no ano agrícola de 2013/2014.

Tratamentos	Os		Or		Ot		OrMFr ⁻¹	
	-----Ovos totais-----							
Ti	22,50	a	820,50	a	1045,50	a	42,66	a
Pc	17,25	a	505,00	a	677,50	a	26,61	a
Pl	21,25	a	804,63	a	1017,13	a	37,18	a
PcPl	39,25	a	575,88	a	968,38	a	29,70	a
Cc	25,75	a	931,88	a	1189,38	a	45,65	a
CV (%)	71,71		27,38		25,06		25,48	
Média	25,20		727,58		979,58		36,36	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias transformadas para $\sqrt{(x+0,1)}$. Ti: testemunha inoculada; Pc: suspensão de conídios de *P. chlamydosporia*; Pi: suspensão de conídios de *P. lilacinus*; PcPi: suspensão de conídios de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus*; Cc: micélio de *C. comatus*.

Observou-se a redução do número de juvenis por grama de solo para o tratamento à base de *P. chlamydosporia*, mas não diferindo entre os demais tratamentos. O controle de nematoides por fungos nematófagos se dá pela colonização da rizosfera pelas hifas, não sendo capaz de parasitar os ovos retidos no interior de galhas (ATKINS et al., 2003). Assim, *P. chlamydosporia* interfere na redução do inóculo secundário, devido ao parasitismo dos ovos liberados pelas fêmeas do interior das galhas (BAILEY et al., 2008).

O fator que determina o sucesso da predação de nematoides por *C. comatus* é o conteúdo de água do meio.

Grandes volumes de água permitem que os nematoides possam flutuar livremente, o que reduz o contato com as “spiny balls”, ampliando o período de sobrevivência dos nematoides (LUO et al., 2007).

As médias resultantes da avaliação das variáveis relacionadas ao número de ovos contidos nas amostras de solo e raiz foram expressas na Tabela 2. Para as variáveis ovos no solo (Os), ovos contidos no sistema radicular total da planta (Or), ovos totais (Ot) e ovos por grama de raiz (Or/MFr) não ocorreu diferenças entre as médias.

As médias resultantes da avaliação das variáveis relacionadas ao número de galhas e FR foram expressas na

Tabela 3. Não se observou diferenças entre os tratamentos para o número de galhas e FR. A ausência de diferença entre os tratamentos para as variáveis J2 e ovos nas raízes e galhas, possivelmente ocorreram em virtude da proteção que as raízes oferecem aos nematoides e ovos depositados no interior das galhas, evitando que o tratamento entre em contato com o nematoide. Segundo Kok et al. (2001), nematoides das galhas somente são suscetíveis à ação dos antagonistas quando apresentam-se na fase de juvenil livre

no solo, ou na forma de ovos depositados na matriz gelatinosa na superfície das raízes. Assim, fungos nematófagos como *P. chlamydosporia*, *P. lilacinus*, e *C. comatus* aplicados após a infecção dos J2 nas raízes, não serão capazes de reduzir o número de galhas.

Estudos devem ser realizados com intuito de conhecer a interação entre os fungos *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus* no controle de fitonematoides no solo.

TABELA 3. Efeito do controle alternativo de nematoides sobre o número de galhas totais, galhas por grama de raiz (Galh/MFr) e o fator de reprodução de nematoides (FR) em plantas de soja inoculadas ou não com *M. incognita* e cultivadas em casa-de-vegetação em Marechal Cândido Rondon, PR no ano agrícola de 2013/2014.

Tratamentos	Galhas totais		Galhas MFr ⁻¹		FR	
			----galhas g-1----			
Ti	997,25	a	119,42	a	3,17	a
Pc	766,88	a	93,60	a	2,20	a
Pl	790,38	a	103,77	a	2,56	a
PcPl	840,50	a	106,00	a	4,26	a
Cc	963,25	a	118,94	a	4,79	a
CV (%)	16,99		17,42		17,10	
Média	871,65		108,35		3,40	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias transformadas para $\sqrt{x+0.1}$. Ti: testemunha inoculada; Pc: suspensão de conídios de *P. chlamydosporia*; Pi: suspensão de conídios de *P. lilacinus*; PcPi: suspensão de conídios de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinus* e Cc: micélio de *C. comatus*.

CONCLUSÕES

Nas condições deste trabalho, é possível concluir que isolados de *Pochonia chlamydosporia* possuem potencial de redução do número de juvenis por grama de raiz de *Meloidogyne incognita* em soja.

AGRADECIMENTOS

A Fundação Araucária, pela concessão de bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. *Plant pathology*. 5 ed. Academic Press, New York, 2005, 948 p.
- ALMEIDA, C.D.S.; SOUZA, D.S.L.; DEL SARTO, R.P.; FIRMINO, A.A.P.; SILVA, T.S.; MAGALHÃES, J.C.C.; SÁ, M.F.G.; ROCHA, T.L. *Fracionamento de extrato aquoso de sementes de *Crotalaria spectabilis* efetivo no controle de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita**. EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2008. (Circular Técnica 78).
- AMARAL, D.R.; OLIVEIRA, D.F.; CAMPOS, V.P.; PANTALEÃO, J.A.; DE CARVALHO, D.A.; NUNES, A.S. Efeito de metabólitos vegetais e fúngicos sobre *Meloidogyne exigua*. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, v.33, Edição especial. p.1861–1865, 2009.
- ANTES, V.A. *Parasitismo de *Meloidogyne* spp. em plantas nativas do oeste do paranaense e variabilidade genética de populações de *Meloidogyne incognita* raça 3*. Marechal Cândido Rondon, 53 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2008.
- ANWAR, S.A.; MCKENRY, M.V. Incidence and reproduction of *Meloidogyne incognita* on vegetable crop genotypes. *Pakistan Journal of Zoology*, Lahore, v.42, n.2, p.135-141, 2010.

- ATKINS, S.D.; HIDALGO-DIAZ, L.; KALISZ, H.; MAUCLINE, T.H.; HIRSCH, P.R.; KERRY, B.R. Development of a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. *Pest Management Science*, Brighton, v.59, n.2, p.183-189, 2003.
- BAILEY, D.J.; BIRAN, G.L.; KERRY, B.R.; GILLIGAN, C.A. Pathozone dynamics of *Meloidogyne incognita* in the rhizosphere of tomato plants in the presence and absence of the nematophagous fungus, *Pochonia chlamydosporia*. *Plant Pathology*, Broadway, v.57, n.2, p.354–362, 2008.
- BALDIN, E.L.L.; WILCKEN, S.R.S.; PANNUTI, L.E.R.; SCHLICK-SOUZA, E.C.; VANZEI, F.P. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide das galhas em cenoura. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.38, n.1, p.36-41, 2012.
- CADIOLLI, M.C.; SANTIAGO, D.C.; HOSHINO, A.T.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas *in vitro*. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, n.2, p.305-311, 2007.
- CADIOLLI, M.C.; SANTIAGO, D.C.; OLIVEIRA, A.D.; PAES, V.S.; ARIEIRA, G.O.; BAIDA, F.C. Efeito de isolados de *Paecilomyces lilacinus* no desenvolvimento de cafezais e na população de *Meloidogyne paranaensis*. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.33, n.3, p.713-720, 2009.
- CAILLAUD, M.C.; DUBREUIL, G.; QUENTIN, M.; PERFUS-BARBOECH, L.; LECOMTE, P.; DE ALMEIDA ENGLER, J.; ABAD, P.; ROSSO, M.N.; FAVERY, B. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology*, Stuttgart, v.165, n.1 p.104–113, 2008.
- CARNEIRO, R.M.D.G. Princípios e tendências do controle biológico de nematoides com fungos nematófagos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.27, n.1, p.113-121, 1992.
- DERAL/SEAB, *Área e Produção por região administrativa da SEAB – 2007 a 2011*. Departamento de Economia Rural/ Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná, 2013.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 2.ed. Brasília, 2006. 306 p.

- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Recife, v.6, p.36-41, 2008.
- FRANZENER, G.; UNFRIED, J.R.; STANGARLIN, J.R.; FURLANETTO, C. Nematóides formadores de galha e de cisto patogênico à cultura da soja em municípios do oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, SP, v.29, n.2, p.261-265, 2005.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Saint Paul, v.48, n.9, p.692, 1964.
- KOK, C.J.; PAPERT, A.; HOK-A-HIN, C.H. Microflora of *Meloidogyne* egg masses: species composition, population density and effect on the biocontrol agent *Verticillium chlamyosporium* (Goddard). **Nematology**, Leiden, v.3, n.8, p.729-734, 2001.
- LUO, H.; LIU, Y.; FANG, L.; LI, X.; TANG, N.; ZHANG, K. *Coprinus comatus* damages nematode cuticles mechanically with spiny balls and produces potent toxins to immobilize nematodes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.73, n.12, p.3916-3923, 2007.
- NUNES, H.T.; MONTEIRO, A.C.; POMELA, A.W.V. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.32, n.3, p.403-409, 2010.
- ROESE, A.D.; ROMANI, R.D.; FURLANETTO, C.; STANGARLIN, J.R.; PORTZ, R.L. Levantamento de doenças na cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill, em municípios da região oeste do estado do Paraná. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.23, n.5, p.1293-1297, 2001.