

**Avaliação, *in vitro*, da desinfestação anaeróbica do solo com resíduo de uva associada a *Pochonia chlamydsosporia* sobre a viabilidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* sp.**

***In vitro* evaluation of anaerobic disinfestation soil with grape residue associated the *Pochonia chlamydsosporia* on the viability of second stage juveniles of *Meloidogyne* sp.**

**Helis Marina Salomão**  
[helissalomao@gmail.com](mailto:helissalomao@gmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

**Rosângela Dallemole Giaretta**  
[giaretta@utfpr.edu.br](mailto:giaretta@utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

**RESUMO**

O objetivo desse estudo foi testar, *in vitro*, diferentes doses de resíduo de uva associado ao fungo *P. chlamydsosporia* para o controle de nematoides juvenis de segundo estágio ( $J_2$ ) de *Meloidogyne* sp. O experimento instalado em potes plásticos contendo 50 g de solo previamente autoclavado, o qual foi infestado com 1.500 ovos de nematoides *Meloidogyne* sp. e adicionados as doses de resíduo de uva (0 g, 15 g, 20 g, 25 g e 30g kg<sup>-1</sup> de solo) e armazenados em câmara de crescimento, a 28°C no escuro por 7 dias. Após este período adicionou-se 1 g de arroz colonizado com *P. chlamydsosporia*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições por tratamento. Após 7 dias, os  $J_2$  do nematoide foram extraído do solo pelo método de funil de Baermann. A maior dose de resíduo de uva testada (30g kg<sup>-1</sup> de solo) associada ao fungo *P. chlamydsosporia* afetou negativamente em 95% a viabilidade dos  $J_2$  do nematoide *Meloidogyne* sp.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fungo nematófago. Matéria orgânica. Controle biológico.

**ABSTRACT**

The objective of this study was to test, *in vitro*, different doses of grape residue associated to the fungus *P. chlamydsosporia* for the control of juvenile second nematodes ( $J_2$ ) of *Meloidogyne* sp. The experiment was installed in plastic pots containing 50 g of pre-autoclaved soil, which was infested with 1,500 nematode eggs *Meloidogyne* sp. and the grape residue doses (0 g, 15 g, 20 g, 25 g and 30 g kg<sup>-1</sup> soil) were added and stored in a growth chamber at 28°C in the dark for 7 days. After this period 1 g of rice infected with *P. chlamydsosporia* was added. The experiment was conducted in a completely randomized design with 6 replicates per treatment. After 7 days, the nematode  $J_2$  was extracted from the soil by the Baermann funnel method. The highest dose of grape residue tested (30 g kg<sup>-1</sup> soil) associated with the *P. chlamydsosporia* fungus negatively affected in 95% the viability of  $J_2$  of the nematode *Meloidogyne* sp.

**KEYWORDS:** Nematophagous fungus. Organic matter. Biological control.

**Recebido:** 16 ago. 2018.

**Aprovado:** 04 out. 2018.

**Direito autoral:**

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



## INTRODUÇÃO

A ocorrência de nematoides nos mais diversos cultivos é um fator limitante para a produção agrícola. Em casos extremos, com forte pressão de inóculo no solo pode acarretar a depreciação dos produtos colhidos e perda total da produção (GIORIA, 2017). Mundialmente, as perdas monetárias causadas por fitonematoides representam valores da ordem de US\$ 100 bilhões de dólares (GALBIERI; ASMUS, 2017).

Espécies do gênero *Meloidogyne* sp. Goeldi respondem por aproximadamente 95% das perdas causadas por fitonematoides na agricultura mundial (GALBIERI; ASMUS, 2017). Este fitoparasita ataca uma vasta gama de plantas hospedeiras, causando geralmente a formação de galhas nas raízes das plantas, as quais dificultam a absorção de nutrientes e água para a manutenção das funções vitais da planta. Reflexo disso, a parte aérea das plantas apresenta mal desenvolvimento, clorose e necrose do tecido foliar. Como consequência desses sintomas ocorre a redução de rendimento e depreciação dos produtos, principalmente quando estes são partes tuberosas ou atuando como porta de entrada para outros fitoparasitas que prejudicam ainda mais o desenvolvimento das plantas (SILVA, 2015; ARIEIRA, 2016; DALLA PASQUA, 2017).

Dentre os vários métodos possíveis para o controle da população de nematoides, o controle biológico destaca-se pelo baixo risco ao meio ambiente e pelo elevado potencial de controle. A utilização do fungo *Pochonia chlamydosporia* Zare & Gams (sin. *Verticillium chlamydosporium* Goddard) tem demonstrado bons resultados no parasitismo de ovos e de fêmeas (CARNEIRO, 1992; CARVALHO, 2017), além de possuir bom desempenho a campo, sobreviver sem a presença do hospedeiro, não ser patogênico para as plantas e promover benefícios as plantas colonizadas (DALLEMOLE-GIARETTA, 2008).

O aumento da eficiência de controle do fitonematoide pode ser obtido por meio da associação deste agente de biocontrole com culturas de cobertura não hospedeiras do nematoide (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2011) ou ainda, por exemplo, com a adição ao solo de subprodutos e rejeitos industriais orgânicos como farinha de sementes e resíduo de uva com efeito nematicida (DALLA PASQUA, 2017; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2010; COUTINHO et al., 2009; REINER, 2015). A adição de resíduos orgânicos ao solo pode melhorar as condições físico-químicas do solo (PAVINATO; ROSLEM, 2008), tornando a planta menos suscetível ao ataque dos nematoides, além do que, durante o processo de decomposição, pode ocorrer a liberação de compostos fitoquímicos com efeito nematicida.

A desinfestação anaeróbica do solo com uso de resíduo de uva pode ser eficiente no controle de diversos patógenos habitantes de solo, dentre eles, os nematoides, pois no processo de decomposição ocorre a liberação de compostos fenólicos, os quais afetam negativamente o desenvolvimento de ovos e juvenis de nematoides (MICHEREFF; BARROS, 2001), além de melhorar características químicas do solo.

Para tanto, o objetivo desse estudo foi testar, *in vitro*, a desinfestação anaeróbica com diferentes doses do resíduo de uva no solo associado ao fungo *P. chlamydosporia* para o controle de nematoides juvenis de segundo estágio ( $J_2$ ) do gênero *Meloidogyne* sp.

## METODOLOGIA



O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco.

Para a instalação do teste *in vitro*, o inóculo do nematoide foi obtido de uma plantação de figo, as quais apresentavam raízes com sintomas característicos da presença de nematoides das galhas *Meloidogyne* sp.

Os ovos do nematoide foram extraídos por meio da trituração das raízes em um liquidificador e um pouco de água e, posteriormente, esta suspensão foi vertida em peneiras de 60 mesh, a qual estava acoplada sobre uma peneira de 500 mesh para se reter apenas os ovos do nematoide. Após, os ovos foram recolhidos para um Becker e a suspensão foi calibrada em uma câmara de Peters, no microscópio óptico no aumento de 4X, resultando em 190 ovos por mL. Para o ensaio foram colocados separadamente, em potes de plásticos de aproximadamente 400 g de capacidade, 50g de solo previamente autoclavado, as doses de 0 g, 15 g, 20 g, 25 g e 30 g de resíduo de uva por kg de solo e 8 mL de suspensão do nematoide (contendo 1.500 ovos de *Meloidogyne* sp.), após essa mistura foi homogeneizada manualmente. Ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições para cada tratamento.

Após a instalação do experimento, os potes plásticos foram tampados e armazenados em câmara de crescimento, no escuro a 28°C por 7 dias. Decorrido esse período, adicionou-se em cada tratamento, exceto na testemunha, 1 g de arroz colonizado com fungo *P. chlamydosporia*, mantendo-os sob mesmas condições, porém com as tampas dos potes plástico colocadas sobre o respectivo pote sem fechá-los.

Após 7 dias, foi realizado a montagem dos funis de Baermann para a coleta dos J<sub>2</sub>, do nematoide dos respectivos tratamentos. Os J<sub>2</sub> do nematoide foram coletados após 4 dias e armazenados em tubos falcon, na geladeira até a contagem das amostras.

A identificação e contagem dos J<sub>2</sub> de *Meloidogyne* sp. foi realizada utilizando-se microscópio binocular com lente de aumento de 10 X em câmara de Peters, sendo a identificação realizada visualmente, baseada nas características morfológicas dos J<sub>2</sub> do nematoide.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de Regressão utilizando o software GENES, onde o modelo que melhor representou os dados foi o linear simples.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da ANOVA (Tabela 1), se verifica que as diferentes doses de resíduo de uva associado a presença de *P. chlamydosporia* foram eficientes e estatisticamente significativas, em nível de 5% de probabilidade de erro, no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp.

Tabela 1. Análise de variância da regressão linear simples para número de nematoides em função de diferentes doses de resíduo de uva associado a presença de *P. chlamydosporia* para o controle de nematoides *Meloidogyne* sp.

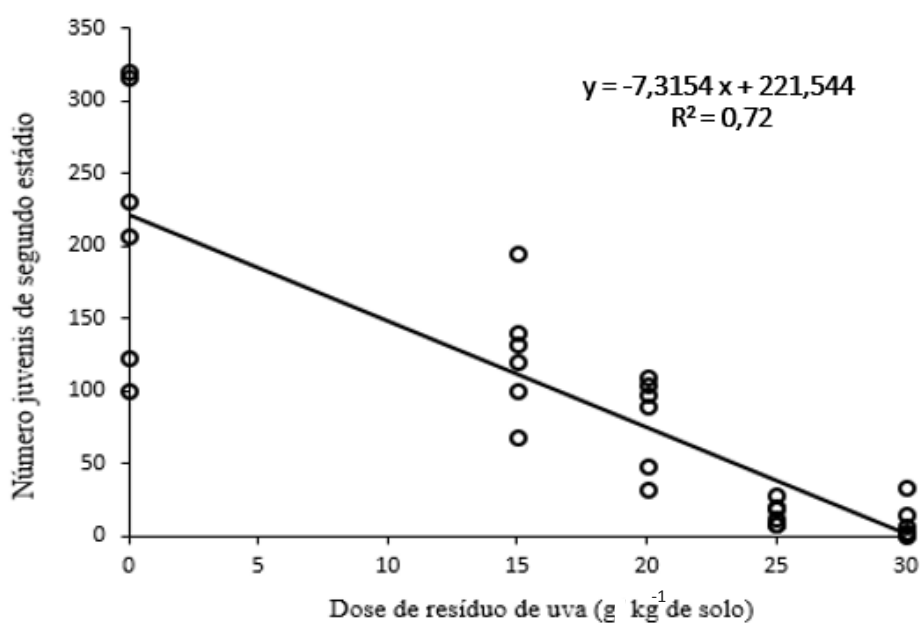
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado Médio	F Calc	P > F
Modelo	1	170178,355	170178,355	74,96	0,0001*
Erro	28	63567,112	2270,254		
Total	29	233745,467			

\*: Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F

Fonte: Autoria própria (2018).

O modelo de equação que melhor apresentou ajuste aos dados foi o linear simples, obtendo-se dele a equação decrescente  $Y = -7,3154 x + 221,544$  com  $r^2 = 0,72$  (Figura 2). Nesse estudo observou-se que quanto maior a dose de resíduo de uva associado a presença de *P. chlamydosporia* menor foi o número de J<sub>2</sub> de *Meloidogyne* sp. viáveis presentes no solo.

Figura 2 – Efeito das diferentes doses de resíduo de uva associado com o fungo *Pochonia chlamydosporia* sobre o número de J<sub>2</sub> de *Meloidogyne* sp. viáveis no solo, em condições de microcosmos.



Fonte: Autoria própria (2018).

A maior dose testada (30g de resíduo de uva kg de solo<sup>-1</sup>) associado com o fungo *P. chlamydosporia* afetou negativamente em 95% a viabilidade dos J<sub>2</sub> do nematoide. Tal resultado obtido neste estudo pode ser explicado possivelmente pela ação direta dos compostos fitoquímicos presentes no resíduo da uva, liberados durante o processo de decomposição, sobre os ovos e o J<sub>2</sub> do nematoide. Com isso, possivelmente os ovos do nematoide ficaram mais suscetíveis ao ataque do fungo *P. chlamydosporia*.

Resultado semelhante também foram encontrados em outros estudos onde foi constatado controle de até 80% do número de ovos com aplicação isolada de *P. chlamydosporia*, já quando associaram o antagonista com 15 g kg<sup>-1</sup> de solo de farinha de semente de abóbora constataram uma redução superior a 90% da população de nematoide das galhas (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2010). Já, a



aplicações de 4 g de farinha de semente de mamão por kg de solo associada a *P. chlamydosporia* propiciou 100% de controle sobre o índice de ovos da população de *M. javanica* (COUTINHO et al., 2009).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de resíduo de uva associado a adição do fungo *P. chlamydosporia* pode ser utilizada como uma alternativa para o controle da população de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp.

Dose de 30g de resíduo de uva kg<sup>-1</sup> de solo associado ao o fungo *P. chlamydosporia* afeta negativamente em 95% a viabilidade dos J<sub>2</sub> do nematoide *Meloidogyne* sp.

### REFERÊNCIAS

ARIEIRA, C. R. D. **Sintomas comuns e manejo de fitonematoides**. 2016. Disponível em:< <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/diagnostico-correto>>. Acesso em: 05 jun. 2018.

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

CARVALHO, P. H. de. **Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro**. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 98p. 2017.

COUTINHO, M. M. et al. Incorporação de farinha de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) para o controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 162-168, 2009.

DALLA PASQUA, S.. **Associação de *Pochonia chlamydosporia* e subproduto sólido da indústria vinícola no controle de *Meloidogyne javanica***. Dissertação (Mestrado) Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. 52p. 2017.

DALLEMOLE-GIARETTA, R. et al.. Efeito da farinha de sementes de abóbora e de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 91-97, 2010.

DALLEMOLE-GIARETTA, R. **Isolamento e identificação de *Pochonia chlamydosporia* de solos infestados com *Meloidogyne* spp. e avaliação do potencial de controle de *M. javanica* e de promoção de crescimento de tomateiro**. (Tese de Doutorado). Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 132 p. 2008.



DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G. de; LOPES, E. A.; FERRAZ, S.; PODESTÁ, G. S. de; AGNES, E. L. Cover crops and *Pochonia chlamydosporia* for the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematology**, v.13, p. 919-926, 2011.

GALBIERI, R.; ASMUS, G. L. **Principais espécies de nematoides do algodoeiro no Brasil**. Embrapa Agropecuária Oeste - Dourados/MS, 2016.

GIORIA, R. Nematoides em hortaliças. **Sociedade Brasileira de Nematologia**. 2017. Disponível em:< <http://nematologia.com.br/tag/nematoides-em-hortalicas/>>. Acesso em: 25 mar. 2018.

MICHEREFF, S. J; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE 2001. 368 p. ISBN 85-87459-06-6

PAVINATO, P. S.; ROSLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo-decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2008.

REINER, D. A. **Subproduto da indústria vinícola no controle de *Meloidogyne javanica***. Dissertação apresentada à Universidade Tecnológica Federal do Paraná no Programa de Pós-Graduação em Agronomia. 77p. 2015.

SILVA, J. O. ***Meloidogyne incognita* na cultura do tomate: levantamento e manejo com produtos biológicos**. Dissertação Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA). 76 p., Goiânia, 2015.