

Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma harzianum* em tratamento de sementes de soja para o controle de *Meloidogyne incognita

Gabriela Guimarães Ruy¹ & Maria Amelia dos Santos²

¹Graduanda do curso de Agronomia na Universidade Federal de Uberlândia, e-mail: gabrielaguimaraesrui@gmail.com;

²Professora Doutora do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia

Autor para correspondência: Gabriela Guimarães Ruy

1 Resumo

2 O *Meloidogyne incognita* causa prejuízos à soja, sendo assim, faz-se necessário o uso
3 de métodos de controle como o tratamento de sementes, produtos químicos e biológicos
4 além da integração de outras técnicas. Os fungos *Trichoderma* sp. e *P. lilacinum*
5 produzem quitinases, capazes de degradar a quitina, que compõe a cutícula dos
6 nematoides e parte do ovo destes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de
7 produtos biológicos para controlar o fitonematoide *Meloidogyne incognita* e o efeito no
8 desenvolvimento da soja. O experimento foi instalado na casa de vegetação da
9 Universidade Federal de Uberlândia entre fevereiro a maio de 2017. O delineamento foi
10 inteiramente ao acaso composto por 6 tratamentos e 10 repetições. Cada vaso recebeu
11 10mL de suspensão calibrada para conter 500 ovos.mL⁻¹. Após 60 dias foram feitas
12 avaliações de massa fresca de raiz e população total do nematoide (solo + raiz) através da
13 técnica da flutuação centrífuga em solução de sacarose e da técnica do liquidificador,
14 respectivamente. Não houve diferença entre os tratamentos de semente de soja e a
15 testemunha em relação à população total de ovos + J2. Contudo, para massa fresca de
16 raiz, os tratamentos Ecotrich e Nemat + Ecotrich proporcionaram melhor
17 desenvolvimento da raiz. Quanto ao fator de reprodução (FR), pode-se observar que não
18 houve diferença, ainda assim, observa-se que o tratamento com Nemat + Ecotrich + Moss
19 apresenta um valor de 10,39 bem inferior à testemunha que foi de 16,75. Os fungos

20 *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma harzianum* não tiveram o efeito esperado no
21 controle de *M. incognita* necessitando de novos experimentos, e os tratamentos com
22 Ecotrich e Nemat + Ecotrich promoveram desenvolvimento radicular. **Palavras-chave:**
23 **Nematoide de galhas, controle biológico e *Glycine max*.**

24 **Abstract:**

25 *Meloidogyne incognita* causes damage to soybeans, thus, it is necessary to use control
26 methods such as seed, chemical and biological treatment, as well as the integration of
27 other techniques. The fungi *Trichoderma* sp. and *P. lilacinum* produces chitinases,
28 capable of degrading chitin, which make up the cuticle of the nematodes and part of the
29 egg. The objective of this work was to evaluate the efficacy of biological products to
30 control phytonematoid *M. incognita* and the effect on soybean development. The
31 experiment was installed in the greenhouse of the Universidade Federal de Uberlândia
32 between February and May 2017. The design was entirely randomized with 6 treatments
33 and 10 replicates. Each vase received 10 mL of suspension calibrated to contain 500
34 eggs.mL⁻¹. After 60 days, fresh root mass and total nematode population (soil + root) were
35 evaluated using the centrifugal flotation technique in sucrose solution and the blender
36 technique, respectively. There was no difference between the treatments of soybean and
37 the control in relation to the total population of eggs + J2. However, for fresh root mass,
38 treatments with Ecotrich and Nemat + Ecotrich provided better root development.
39 Regarding the reproduction factor (RF), it can be observed that there was no difference,
40 however, it is observed that the Nemat + Ecotrich + Moss treatment presents a value of
41 10.39 well lower than the control that was 16.75. The fungi *Purpureocillium lilacinum*
42 and *Trichoderma harzianum* did not have the expected effect on the control of *M.*
43 *incognita*, necessitating new experiments, and the treatments Ecotrich and Nemat +

44 Ecotrich promoted root development. **Keywords: Root-knot nematode, biological**
45 **control and Glycine max.**

46 **Introdução**

47 Segundo Machado (2015), conforme citado por Souza (2018), o fitonematoide
48 *Meloidogyne incognita* (Koifod e White) Chitwood pode causar perdas de 55% na
49 produção de soja em áreas altamente infestadas e o prejuízo pode chegar a 16,2 bilhões
50 de reais (Rivas, 2015).

51 Os sintomas, mais comumente observados, nas plantas são plantas raquíticas e
52 amarelcidas, as folhas geralmente apresentam manchas cloróticas ou necroses entre as
53 nervuras, que as vezes podem ser confundidas com deficiência nutricional (Dias et al.,
54 2010). Já no sistema radicular, as raízes apresentam grande quantidade de galhas, tanto
55 na raiz principal quanto nas secundárias, de forma que este fica atrofiado e os vasos do
56 xilema ficam comprimidos causando desorganização do cilindro vascular (Teixeira,
57 2013). Além disso, é possível observar também redução na nodulação (Asmus, 2001).

58 Dentre as medidas de controle desse patógeno estão, evitar a entrada do
59 fitonematoide em áreas não infestadas e evitar a disseminação deste. Geralmente o
60 controle é uma tarefa muito difícil e sua erradicação total é praticamente impossível
61 (Freitas, 2001).

62 Devido à grande exigência da sociedade em substituição dos produtos químicos
63 por métodos alternativos e menos danosos ao meio ambiente, surge a utilização do
64 controle biológico contra fitonematoides (Santiago, 2006).

65 O fungo *Purpureocillium lilacinum* (Thom.) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-
66 Jones & Samson é classificado como parasita oportunista de ovos, cistos e fêmeas
67 sedentárias (Santin, 2008). Devido a produção de enzimas extracelulares como proteases
68 e quitinases (Gonçalves, 2016), o fungo é capaz de degradar proteínas e quitinas,

69 respectivamente, que estão presentes tanto na composição dos ovos quanto no corpo do
70 nematoide (Khan et al., 2004).

71 O gênero *Trichoderma* (Persoon) é representado por fungos não fitopatogênicos,
72 utilizado no controle de fitopatógenos (Welter, 2015) pela capacidade de produzir
73 enzimas líticas extracelulares capazes de degradar a parede celular de fungos, fazendo
74 com que ele tenha grande capacidade de parasitar fungos fitopatogênicos com estruturas
75 de resistência (Gonçalves, 2016), assim como ovos e fêmeas de nematoides por terem
76 estruturas constituídas de quitina (Santin, 2008).

77 O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de produtos biológicos para
78 controle de *Meloidogyne incognita* e o seu efeito para o desenvolvimento da soja.

79 **Material e métodos**

80 O experimento foi conduzido no período de fevereiro a maio de 2017, na casa de
81 vegetação do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia. O
82 delineamento experimental foi inteiramente ao acaso constituído de 6 tratamentos e 10
83 repetições.

84 Foram utilizadas sementes de soja da cultivar Brasmax Desafio RR8473RFS a
85 qual é suscetível ao nematoide em questão. Os tratamentos utilizados foram: testemunha
86 (sementes não tratadas); Avicta completo [abamectina + tiametoxan + (metalaxil-m +
87 tiabendazol + fludioxonil)]; Nemat [*Purpureocillium lilacinum*]; Ecotrich [*Trichoderma*
88 *harzianum*]; Nemat + Ecotrich e Nemat + Ecotrich + Moss.

89 Foram semeadas 3 sementes de soja, tratadas ou não, em cada vaso, cada qual com
90 capacidade de 1,5 L, contendo solo e areia na proporção de 1:2. Em cada vaso, após a
91 emergência das plântulas, foi feito o desbaste, deixando apenas uma plântula vigorosa.

92 O inóculo do nematoide *M. incognita* foi obtido pelo processamento de raízes de
93 soja infectadas utilizando-se a técnica de Bonetti e Ferraz (1981). Após a obtenção da
94 suspensão de nematoides, foi feita a calibração para conter 500 ovos de nematoide.mL⁻¹.

95 Quando a soja já apresentava a primeira folha unifoliolada, uma suspensão de 10
96 mL foi inoculada em três orifícios do solo distanciados de 2 cm da haste da plântula e de
97 2 cm de profundidade cada.

98 Sessenta dias após a inoculação foram determinadas massa fresca de raiz com o
99 auxílio de uma balança de precisão, e a população total de nematoides (nematoides no
100 solo + nematoides na raiz), através das técnicas da flutuação centrífuga em solução de
101 sacarose descrita por Jenkins (1964) e da técnica do liquidificador descrita por Bonetti e
102 Ferraz (1981), respectivamente.

103 O fator de reprodução (FR), serve para indicar o quão boa ou má hospedeira a
104 planta é ao fitopatógeno, a fórmula utilizada para o cálculo é: $FR = P_f / P_i$, onde P_f ,
105 significa população final e P_i , significa população inicial ($P_i = 5000$ ovos). Se o resultado
106 for próximo ou igual a zero, significa que a planta é má hospedeira do patógeno e se o
107 resultado for próximo ou igual a 1, significa que a espécie é boa hospedeira.

108 O software estatístico SISVAR foi responsável pelas análises de variância e a
109 comparação de médias foi realizada pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

110 **Resultados e discussão**

111 Pela tabela 1, observa-se que não houve diferença entre os tratamentos de semente
112 de soja e a testemunha, em relação a população total de ovos e J2.

Tabela 1: Massa fresca de raiz (g) de soja Brasmax Desafio RR-8473RFS, população total e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* em soja com tratamento ou não de sementes com produtos químicos ou biológicos.

Tratamentos	Massa fresca de raiz (g)	População total de ovos e J2	Fator de reprodução (FR)
Testemunha	10,98 b**	83.775,6* a**	16,75
Avicta completo	13,48 b	94.402,6 a	18,88
Nemat	12,79 b	75.803,2 a	15,16
Ecotrich	19,36 a	112.068,8 a	22,41
Nemat + Ecotrich	17,36 a	114.195,4 a	28,84
Nemat + Ecotrich + Moss	12,66 b	51.974,8 a	10,39
Coefficiente de variação (%)	de 42,83	18,60	

*dados originais. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\log x$.

**médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

113 No trabalho realizado por Nunes et al., (2010) o tratamento de semente com o
 114 fungo *P. lilacinum* também não apresentou diferença para número de ovos e de J2, em
 115 relação a testemunha.

116 Para a massa fresca de raiz é possível observar que os tratamentos Ecotrich e
 117 Nemat + Ecotrich foram os que proporcionaram melhor desenvolvimento radicular. O
 118 fungo *Trichoderma* sp. é capaz de produzir hormônios e vitaminas, além de ácidos
 119 orgânicos que solubilizam fosfato. Esse fungo pode fornecer micronutrientes e minerais
 120 pela transformação desses na forma útil à planta; produzem metabólitos secundários e
 121 colonizam a rizosfera da planta interferindo positivamente para o crescimento desta, e

122 ainda, são capazes de induzir mudanças metabólicas que ativam a expressão de genes
123 elicitores ligados ao sistema de defesa da planta (Melo, 1991; Rezende, 2011).

124 Quanto ao fator de reprodução (FR), pode-se observar que não houve diferença,
125 ainda assim, observa-se que o tratamento Nemat + Ecotrich + Moss apresenta um valor
126 de 10,39 bem inferior à testemunha que foi de 16,75. Segundo a Ballagro (2018), o
127 produto Moss tem a capacidade de ativar enzimas de defesa da planta e aumentar a
128 lignina, possui extratos vegetais e precursores hormonais, e contém também bioativadores
129 naturais; levando ao entendimento que esse produto teria a capacidade de induzir a
130 resistência da planta.

131 Conclui-se que os tratamentos biológicos com os fungos *Purpureocillium*
132 *lilacinum* e *Trichoderma harzianum* não alcançaram o resultado esperado, sendo
133 necessários novos estudos. E os tratamentos Ecotrich e Nemat + Ecotrich proporcionaram
134 um melhor desenvolvimento radicular da cultura da soja.

135 **Referências**

- 136 ASMUS, G. L. Danos causados à cultura da soja por nematóides do gênero *Meloidogyne*.
137 In: Silva, J.F.V. (Ed.) Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja.
138 Londrina. Embrapa Soja. 2001. Pp. 39-62.
- 139 BALLAGRO. Moss. Disponível em: <[http://www.ballagro.com.br/nutricao-](http://www.ballagro.com.br/nutricao-vegetal/pickup/moss-70)
140 [vegetal/pickup/moss-70](http://www.ballagro.com.br/nutricao-vegetal/pickup/moss-70)>. Acesso em: 13 dez. 2018.
- 141 BONETI, J. I. S., FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração
142 de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6: 3. 1981.
- 143 DIAS, W. P., SILVA, J. F. V., GARCIA, A., CARNEIRO, G. E. S. Nematoides de
144 importância para a soja no Brasil. Boletim de pesquisa de soja 11: 173-183. 2007.
- 145 FREITAS, L. G., OLIVEIRA, R. D'A.L., FERRAZ, S. Introdução à nematologia. Viçosa.
146 UFV. 2001.

147 GONÇALVES, A. H. Eficiência da inoculação de *Trichoderma* e *Purpureocillium* na
148 cultura da soja em Tocantins. (Tese Doutorado). Gurupi. Universidade Federal do
149 Tocantins. 2016.

150 JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from
151 soil. Plant Disease Reporter 48: 692. 1964.

152 KHAN, A., WILLIAMS, K., NEVALAINEN, H. K. M. KHAN, Alamgir; WILLIAMS,
153 Keith L.; NEVALAINEN, Helena KM. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and
154 chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica*
155 juveniles. Biological Control 31: 346-352. 2004.

156 MELO, I. S de. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico
157 de doenças de plantas. Controle biológico de doenças de plantas, Jaguariuna, Brasil. 1991.
158 p. 135-156.

159 NUNES, H. T., MONTEIRO, A. C., POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e
160 químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. Acta Scientiarum.
161 Agronomy. Maringá, Brasil. 2010. p. 403-409.

162 REZENDE, A. A. Eficiência de diferentes produtos comerciais à base de *Trichoderma*
163 spp. no controle da podridão branca da haste da soja. (Tese Mestrado). Uberlândia.
164 Universidade Federa de Uberlândia. 2011.

165 RIVAS, Lucas. Por ano, nematoides causam prejuízos de R\$ 35 bilhões ao agronegócio
166 nacional. 2015. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/noticias/por-ano--nematoides-causam-prejuizos-de-r--35-bilhoes-ao-agronegocio-nacional_343212.html>.
167
168 Acesso em: 13 dez. 2018.

169 SANTIAGO, C. D., HOMECHIN, M., SILVA, J.F.V., RIBEIRO, E.R., GOMES, B. C.,
170 SANTORO, P. H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para

171 controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. Ciência Rural, Santa Maria, Brasil.
172 2006. Pp 1055-1064.

173 SANTIN, R. C. M. Potencial do uso dos fungos *Trichoderma* spp. e *Paecilomyces*
174 *lilacinus* no controle de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris*. (Tese doutorado).
175 Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008.

176 SOUZA, Gabrielly Lara de. Como realizar o manejo de nematoides em sistemas de
177 produção agrícola. 2018. Disponível em: <[https://institutoagro.com.br/manejo-de-](https://institutoagro.com.br/manejo-de-nematoides/#respond)
178 [nematoides/#respond](https://institutoagro.com.br/manejo-de-nematoides/#respond)>. Acesso em: 13 dez. 2018.

179 TEIXEIRA, R. A. Reação de cultivares de soja a *Meloidogyne incognica* e *M. javanica*.
180 (Tese Doutorado). Goiânia. Universidade Federal de Goiás. 2013.

181 WELTER, A. M. Avaliação de produtos para o controle de nematoide na cultura da soja.
182 (Tese Mestrado). Pelotas. Universidade Federal de Pelotas. 2015.