

# Como reduzir o número de galhas de *Meloidogyne paranaensis* em raízes de tomateiro usando minhocas?

## How to reduce the number of *Meloidogyne paranaensis* galls in tomato using earthworms?

Jair Alves Dionísio<sup>1\*</sup>; Marilene de Fátima Lunardi<sup>2</sup>;  
Arlei Maceda<sup>3</sup>; Jorge Ferreira Kusdra<sup>4</sup>

### Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de *Amyntas* spp. e *Pontoscolex corethrurus* na redução de galhas de *Meloidogyne paranaensis* em raízes de *Solanum lycopersicum*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Nematologia do Centro de Diagnóstico “Marcos Enrietti”, da Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB), em delineamento experimental blocos ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições: T1. *M. paranaensis*; T2. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. T3. *M. paranaensis* + *P. corethrurus*; T4. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. + *P. corethrurus*. Inicialmente, seis minhocas adultas de *Amyntas* spp. ou *P. corethrurus*, isoladas ou na mesma proporção (3:3), com a biomassa fresca previamente determinada, foram inoculadas em vasos de polietileno com capacidade para 4 L, contendo três litros de solo esterilizado. Após uma semana, foram transplantadas, para os vasos, mudas de tomate (cultivar ‘Rutgers’) e inocularam-se 5 mL de uma suspensão de *M. paranaensis* contendo 5.000 ovos e/ou juvenis por vaso. Aos 65 dias de inoculação foram avaliados o número de minhocas remanescentes, por catação manual, a biomassa fresca, por pesagem direta e o número de galhas nas raízes do tomate, por contagem direta em microscópio estereoscópio. Os resultados demonstraram que houve redução na quantidade de galhas/planta, nos tratamentos que foram inoculadas minhocas, variando de 39,2% a 55,2%, respectivamente, para *Amyntas* spp. e *P. corethrurus*. Já a combinação das minhocas apresentou redução de 50,0% de incidência de galhas. A taxa de remanescente das minhocas oscilou de 26,7% a 63,3%, com superioridade para o gênero *Amyntas*. Os resultados demonstram que a utilização de minhocas no controle biológico de nematoide, na cultura do tomate, apresenta grande potencial a ser entendido e explorado.

**Palavras-chave:** *Amyntas* spp., *Pontoscolex corethrurus*, nematoide, *Solanum lycopersicum*

### Abstract

The objective of the present work was to determine the incidence of *Meloidogyne paranaensis* galls in the roots of *Solanum lycopersicum*, after inoculation with *Amyntas* spp. and *Pontoscolex corethrurus*. The experiment was performed in the greenhouse in a randomised block experimental design was adopted, with four treatments and five repetitions: T1. *M. paranaensis*; T2. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. T3. *M. paranaensis* + *P. corethrurus*; T4. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. + *P. corethrurus*. Initially, six adult worms of *Amyntas* spp. or *P. corethrurus*, isolated or in the same proportion (3:3), with the previously determined fresh biomass. After one week, tomato seedlings (cultivar “Rutgers”) were transplanted to the pots and inoculated with 5 mL of a suspension of *M. paranaensis* containing

<sup>1</sup> Prof. Dr. do Deptº de Solos e Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, PR. E-mail: jair@ufpr.br

<sup>2</sup> Discente do Curso Graduação em Agronomia, UFPR, Curitiba, PR, E-mail: valmiqui@ufpr.br

<sup>3</sup> Engº Agrº, M.e do Laboratório de Nematologia, Agência de Defesa Agropecuária do Paraná, ADAPAR, Curitiba, PR. E-mail: arleimaceda@adapar.pr.gov.br

<sup>4</sup> Prof. Dr. do Deptº de Agronomia, Universidade Federal do Acre, UFAC, Rio Branco, AC. E-mail: kusdra@terra.com.br

\* Autor para correspondência

5,000 eggs and/or juveniles per pot. Sixty-five days after inoculation, the number of remaining worms was counted after manual collection; the fresh biomass was determined by direct weighing, and the number of galls on the roots of the tomato was counted directly in a stereomicroscope. The results demonstrated a reduction in the number of galls per plant with treatments involving inoculation with worms, varying between 26,7% and 63,3%, respectively, for *Amyntas* spp. and *P. corethrus*. Meanwhile, the combination of worms lead to a reduction of 50,0% in the incidence of galls. The results demonstrate that the use of worms in the biological control of nematodes, during tomato cultivation, has great potential that requires further investigation.

**Key words:** *Amyntas* spp., *Pontoscolex corethrus*, *Meloidogyne paranaensis*, *Solanum lycopersicum*

Nematoides são organismos da microfauna edáfica, podendo ser divididos, segundo o hábito alimentar, em bacteriófagos, micetófagos, onívoros, parasitos de plantas e predadores.

A espécie *Meloidogyne paranaensis* Carneiro et al., 1996 foi descrita parasitando raízes de cafeeiro no estado do Paraná, Brasil. Sua importância é devida à distribuição geográfica e a severidade dos danos causados às diferentes culturas, sendo parasito de inúmeras espécies cultivadas e não cultivadas (MÔNACO et al., 2008).

Os procedimentos de controle de nematoides implicam em reduzir as populações de tal modo que ocorra menos infecção nas raízes do que poderia ocorrer sem as medidas adotadas (TAYLOR; SASSER, 1978). Nematicidas químicos são caros e poluentes, por isso métodos alternativos de controle são de grande importância para a produção agrícola sustentável (NEVES et al., 2009).

Minhocas interagem de forma generalizada com os processos físicos (hidrológico e gasoso) que ocorrem no perfil do solo e, dessa forma, contribuem para o aumento da porosidade, aeração e infiltração de água (BLANCHART et al., 1999). Em relação aos aspectos biológicos estão intimamente relacionadas com a comunidade microbiana, a microfauna e as plantas e envolvidas na decomposição e mineralização da matéria orgânica do solo (BONKOWSKI et al., 2000).

A inoculação de plantas de banana (*Musa acuminata* Colla) com o *Rhadopholus similis* (Cobb) Thorne e *Pontoscolex corethrus* Muller, 1857 demonstrou que, apesar das minhocas não

terem reduzido significativamente o número de nematoides, o crescimento vegetal e a nutrição mineral das plantas foram influenciados positivamente pela ação das minhocas (LAFONT et al., 2007).

O uso de práticas agrícolas de manejo do solo como a adubação orgânica, por exemplo, que estimulem as comunidades de minhocas pode contribuir para aumentar a sustentabilidade e aliviar naturalmente o impacto dos nematoides sobre as plantas.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de *Amyntas* spp. e *P. corethrus* na redução de galhas de *M. paranaensis* nas raízes de *Solanum lycopersicum*.

Na Etapa I – Obtenção do inóculo, cultivaram-se plantas de tomate *Lycopersicum esculentum* cultivar ‘Rutgers’ em copos plásticos de polietileno, com capacidade de 300 mL, contendo 250 mL do solo Gleissolo Melânico (EMBRAPA, 1999), que foi previamente esterilizado em forno a vapor, por oito horas contínuas a temperatura aproximada de 100 °C, e cujos atributos físico-químicos foram textura (g.dm<sup>-3</sup>), areia 256,5; silte 393,5; argila 350,0; pH 5,9; cátions trocáveis (cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>) Ca, Mg e K, respectivamente 12,5; 5,0 e 1,4; P 245 mg.dm<sup>-3</sup> e C 43,8 g.dm<sup>-3</sup>.

Uma semana após a emergência foi realizado o desbaste, deixando-se uma plântula por vaso que decorridos 20 dias, foram transferidas para vasos de polietileno, com capacidade para 4 L, contendo 3 L de solo esterilizado. Uma semana após o transplante, o solo foi inoculado com uma suspensão de ovos e/

ou juvenis de *M. paranaensis*, em três orifícios de 2 cm de diâmetro a 1 cm de distância das plântulas.

O inóculo de *M. paranaensis* foi obtido das raízes infectadas de tomate cultivadas por três meses em casa de vegetação da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola. Para a extração dos nematoides, das galhas das raízes, utilizou-se a técnica de Bonetti, Ferraz (1981). As raízes foram lavadas, trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante 30 segundos e a suspensão assim obtida foi passada em peneiras sobrepostas de 20 e 400 mesh. Recolheu-se a suspensão da peneira de 400 mesh em um béquer e com o auxílio de lâmina de Peters determinou-se a concentração em microscópio fotônico (aumento de 1000 vezes).

Na Etapa II, o experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Nematologia do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, da Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná com delineamento experimental em blocos ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições (20 unidades experimentais): T1. *M. paranaensis*; T2. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. T3. *M. paranaensis* + *P. corethrurus*; T4. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. + *P. corethrurus*.

As unidades experimentais foram representadas por vasos de polietileno, com capacidade para 4 L, previamente desinfetados com hipoclorito de sódio (2,0% a 2,5% v/v), contendo 3 L de solo esterilizado, conforme descrito na etapa anterior.

*Amyntas* spp. e *P. corethrurus* foram coletadas manualmente do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná de solo antropogênico, cultivado com pastagem.

Seis minhocas adultas, caracterizadas pela presença de clitelo, de *Amyntas* spp. ou *P. corethrurus*, selecionadas de áreas agrícolas, foram inoculadas na superfície dos vasos isoladamente (T2 e T3) ou combinadas (T4) na mesma proporção (3:3). Determinou-se a biomassa fresca das seis

minhocas em conjunto, correspondente a cada tratamento, com prévia lavagem dos animais em água destilada, secagem em papel toalha e pesagem em balança de precisão centesimal. Os vasos foram cobertos com discos sintéticos (poliéster) de tecido não tecido (TNT), com 28 cm de diâmetro, para reduzir as perdas de umidade, radiação solar direta sobre as minhocas e assegurar a visualização dos animais mortos.

Mudas de tomateiro do cultivar 'Rutgers' foram transplantadas após uma semana de ambientalização das minhocas às unidades experimentais e, no mesmo dia, realizou-se a inoculação dos nematoides, na dose de 5 mL/planta com suspensão contendo 4.000 ovos e/ou juvenis/mL, em três orifícios de 2 cm de profundidade, equidistantes 1cm das plantas.

Durante o período de condução da pesquisa a umidade do solo foi mantida por regas diárias e monitoradas a temperatura (22 – 28°C) e a umidade relativa do ar (60 – 80%).

Aos 65 dias após a inoculação de *M. paranaensis* avaliaram-se o número de minhocas remanescentes por catação manual. As raízes das plantas de tomate foram removidas, o solo distribuído em bandejas plásticas, desagregado manualmente e tamizado em peneiras de 2 mm de diâmetro; a biomassa fresca das minhocas foi estimada por pesagem direta e o número de galhas de *M. paranaensis* quantificado por observação direta das raízes sob estereomicroscópio (aumento mínimo de 45 vezes).

Os resultados referentes ao número de galhas.planta<sup>-1</sup> foram submetidos à verificação da normalidade dos erros (Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (Bartlett). Posteriormente foram submetidos à análise de variância (teste F) e à comparação de médias (Tukey).

Os resultados demonstram que a inoculação com *M. paranaensis* promoveu expressiva formação de galhas/planta variando de 111,4 a 248,8 (Tabela 1) confirmando a susceptibilidade do cultivar de tomate 'Rutgers' ao ataque do *M. paranaensis*, premissa básica para a condução do estudo.

**Tabela 1.** Número de galhas/planta de tomate (*Solanum lycopersicum* cultivar “Rutger”) inoculadas com *Amyntas* spp., *Pontoscolex corethrurus* e *Meloidogyne paranaensis*. Média de cinco repetições.

| Tratamentos | Galhas (número/planta) |                              |
|-------------|------------------------|------------------------------|
|             | Dados originais        | Dados transformados em log x |
| T1. M       | 248,8                  | 2,392c                       |
| T2. M+A     | 111,4                  | 2,044a                       |
| T3. M+P     | 150,8                  | 2,173b                       |
| T4. M+A+P   | 134,2                  | 2,127ab                      |
| CV(%)       | 14,46                  | 2,75                         |

*Meloidogyne paranaensis* (M); T2. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. (M+A); T3. *M. paranaensis* + *Pontoscolex corethrurus* (M+P); T4. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp.+ *P. corethrurus* (M+A+P).

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Fonte:** Elaboração dos autores.

A inoculação das minhocas *Amyntas* spp. e *Pontoscolex corethrurus*, individualmente ou associadas, foi capaz de reduzir o número de galhas/planta, demonstrando a importância dessa técnica de controle biológico do *M. paranaensis*. Dominguez, Parmelee e Edwards (2003) constataram a redução do número de nematoides após a passagem pelo trato digestivo das minhocas. Esses últimos autores confirmaram que houve a digestão dos nematoides pela presença de cutícula no trato digestivo das minhocas. Porém, Lafont et al. (2007) não observaram redução significativa na densidade de *Radopholus similis* nas raízes de bananeira (*M. acuminata*) após a inoculação de *P. corethrurus*.

Verificou-se que a redução das galhas/planta foi variável, diferindo significativamente, pois T2: A+M e T3: A+P, atingiram valores, respectivamente, de 55,2% e 39,4% em relação ao tratamento (T1) que foi inoculado com o *M. paranaensis*. A inoculação conjunta das minhocas T4: A+M+P, também promoveu redução (46,1%) no número de galhas/planta.

As espécies de minhocas (*Amyntas* spp e *P. corethrurus*), individualmente ou combinadas, foram eficientes em reduzir ( $p < 0,05$ ) o número de galhas nas raízes de tomateiro promovidas pelo nematoide *M. paranaensis*. Entretanto, *Amyntas* spp. foi mais eficiente que *P. corethrurus* pois, por contrastes ortogonais, verificou-se que efeito

isolado da primeira (*Amyntas* spp) foi superior ( $p < 0,05$ ) inclusive ao efeito combinado de ambas as espécies enquanto que o da segunda (*P. corethrurus*) foi estatisticamente igual ( $p > 0,05$ ).

O intervalo de ataque dos nematoides às raízes é variável entre plantas. O tomateiro apresenta elevada susceptibilidade, principalmente quando as plantas são novas (CAMPOS et al., 2001) como na fase de mudas. Sendo assim, as minhocas *Amyntas* spp. e *P. corethrurus*, respectivamente, epigeica e endogêica (BOUCHÉ; GARDNER, 1984) ingerem solo em maior (*P. corethrurus*) ou menor (*Amyntas* spp) profundidade e, juntamente com este, também ovos/juvenis de *Meloidogyne paranaensis* que são destruídos ou inativados na passagem pelo sistema digestório dos animais e, com isso, reduz-se a possibilidade de formação de galhas/planta.

Possivelmente a redução dos ovos/juvenis de nematoides foi proporcionada pela ação combinada de aspectos mecânicos e bioquímicos relacionados à alimentação e conseqüente digestão das minhocas. No primeiro caso o solo ingerido, ao passar pela moela, rica em partículas de quartzo, sofre trituração, reduzindo, conseqüentemente, o tamanho deste (LEE, 1985) podendo então ocasionar, em paralelo, a eliminação dos ovos/juvenis de nematoides que estavam inicialmente presentes no solo que serviu de alimento às minhocas. Redução de mais de 50% do número de nematoides, na forma adulta,

presente no esterco bovino e na mistura composta por lodo de esgoto e esterco bovino foi confirmada por Dominguez, Parmelee e Edwards (2003). No segundo caso a destruição pode ser ocasionada pela ingestão dos ovos e destruição do envoltório destes pelas enzimas do trato digestivo das minhocas, principalmente a quitinase (EDWARDS; FLETCHER, 1988) liberando as larvas no seu interior. Dessa forma, as larvas permanecem no estado infestante nos tecidos, no celoma e hemocele sem desenvolvimento essencial e, normalmente, sem crescimento, o que é denominado paratenose (PESSOA; MARTINS, 1988). Sendo assim, em experimentos futuros dessa natureza, é necessária a realização de exames parasitológicos dos tecidos das minhocas para melhor interpretação dos resultados.

Observou-se que a taxa de remanescência (%) das minhocas, em número e em biomassa, avaliada ao final do experimento, aos 65 dias (Tabela 2), foi

variável. Verificou-se maior número recuperado no tratamento T2: A+M (63,3%) sendo este intermediário no T4: A+M+P (26,7%) e nulo no T3: P + M (0%). A biomassa remanescente seguiu o mesmo padrão do número remanescente. Em nenhum dos tratamentos, que recebeu inoculação das minhocas (T2, T3, T4) foi detectada a presença de indivíduos jovens e/ou casulos, demonstrando que no período de condução da pesquisa não houve reprodução. Além disso, espécimes de *P. corethrurus* não foram encontrados em nenhum tratamento aos 65 dias, confirmando a grande sensibilidade dessa espécie ao manuseio e ao confinamento em vasos. Considerando-se que as condições de temperatura e umidade foram monitoradas diariamente e os atributos físico-químicos do solo não apresentavam limitações à permanência das minhocas, destacam-se como fatores relevantes à taxa de remanescência a morte natural, a fuga e o tipo de unidade experimental utilizada.

**Tabela 2.** Número, biomassa fresca e remanescência de *Pontosclex corethrurus* e *Amyntas* spp. após 65 dias, em vasos, cultivado com tomateiro (*Solanum lycopersicum* cultivar 'Rutger') e inoculado com *Meloidogyne paranaensis*. Média de cinco repetições.

| Tratamentos | Número de minhocas/vaso |           | Remanescência (%) | Biomassa fresca (g/vaso) |       | Remanescência (%) |
|-------------|-------------------------|-----------|-------------------|--------------------------|-------|-------------------|
|             | Inicial                 | Final     |                   | Inicial                  | Final |                   |
| T2. M+A     | 30                      | 19,0      | 63,3              | 9,43                     | 3,62  | 38,39             |
| T3. M+P     | 30                      | 0,0       | 0,0               | 0,0                      | 0,0   | 0,0               |
| T4. M+A+P   | 30 (15+15)              | 8,0 (8+0) | 26,7              | 5,82                     | 1,41  | 24,23             |

T2. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp. (M+A); T3. *M. paranaensis* + *Pontosclex corethrurus* (M+P); T4. *M. paranaensis* + *Amyntas* spp.+ *P. corethrurus* (M+A+P).

**Fonte:** Elaboração dos autores.

A inoculação das minhocas *Amyntas* spp. e *P. corethrurus*, individualmente ou em conjunto, reduz a formação de galhas em tomateiro. Portanto estas espécies são eficientes no controle biológico de *M. paranaensis* na cultura do tomate sendo, porém, *Amyntas* spp. mais eficiente. A menor eficiência de *P. corethrurus* pode ser devida à sua menor taxa de remanescência nas condições experimentais.

## Referências

BLANCHART, E.; ALBRECHT A.; ALEGRE, J.; DUBOISSET, A.; GILOT, C.; PASHANASI, B.; LAVELLE, P.; BRUSSAARD, L. Effects of earthworms on soil structure and physical properties. In: LAVELLE, P.; BRUSSAARD, L.; HENDRIX, P. (Ed.). *Earthworms management in tropical agroecosystems*. CAB International: Wallingford, 1999. p. 149-172.

- BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.
- BOUCHÉ, M. B.; GARDNER, R. H. Earthworm functions: VIII – population estimation techniques. *Revue d'Ecologie et Biologie du Sol*, Montrouge, v. 21, n. 1, p. 37-63, 1984.
- CAMPOS, V. P.; CAMPOS, J. R.; SILVA, L. H. C. P.; DUTRA, M. R. Manejo de nematoides em hortaliças. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. (Ed.). *Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças*. Lavras: UFLA, 2001. p. 125-158.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O.; SANTOS, M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae) a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. *Journal of Nematology*, Amsterdam, v. 28, n. 2, p. 177-189, 1996.
- DOMINGUEZ, J., PARMELEE, R. W., EDWARDS, C. A. Interactions between *Eisenia andrei* (Oligochaeta) and nematode populations during vermicomposting. *Pedobiologia*, Jena, v. 47, n. 1 p. 53-60, 2003.
- EDWARDS, C. A.; FLETCHER, K. E. Interactions between earthworms and microorganisms in organic-matter breakdown. *Agricultural, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 235-247, 1988.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: Embrapa, 1999. 412 p.
- LAFONT, A.; RISEDE, J. M.; LORANGER-MERCIRIS, G.; DAUPHIN, C. C.; DOREL, M.; RHINO, B.; LAVELLE, P. Effects of the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on banana plants infected or not with the plant-parasitic nematode *Radopholus similis*. *Pedobiologia*, Jena, v. 51, n. 4, p. 311-318, 2007.
- LEE, K. E. *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use*. New York: Academic Press, 1985. 411 p.
- MÔNACO, A. P. do A.; CARNEIRO, R. G.; KRANTZ, W. M.; GOMES, J. C.; SCHERER, A.; NAKAMURA, K. C.; MORITZ, M. P.; SANTIAGO, D. Reação de plantas daninhas a *Meloidogyne paranaensis*. *Nematologia Brasileira*, Campinas, v. 32, n. 4, p. 279-284, 2008.
- NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; COSTA, M. D.; ALMEIDA, V. S.; FERRAZ, S. Controle de *Meloidogyne javanica* pelo uso de bactérias isoladas de solo biofumigado com resíduos de diferentes espécies de brássicas. *Nematologia Brasileira*, Campinas, v. 33, n. 2, p. 132-138, 2009.
- PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. *Parasitologia médica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 872 p.
- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. *Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (especies de Meloidogyne)*. Raleigh: North Carolina State University, 1978. 111 p.