ESTUDO DO MECANISMO DE AÇÃO DO TRIGO MOURISCO SOBRE A POPULAÇÃO DE *MELOIDOGYNE JAVANICA*

Angélica Sanchez Melo (PIBIC/CNPq/FA/UEM),
Beatriz Almeida e Silva, Guilherme Tarini, Raiane Pereira Schwengber,
Cláudia Regina Dias Arieira (Orientador)
e-mail: angelicasanchez0702@gmail.com
Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Umuarama, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Agrárias, Agronomia, Fitossanidade

Palavras-chave: *Fagopyrum esculentum*, antagonismo, nematoide das galhas.

Resumo

Os nematoides das galhas destacam-se entre os patógenos mais destrutivos para a agricultura e a rotação de culturas está entre os métodos mais eficientes de manejo. Assim, objetivou-se avaliar a reprodução de diferentes níveis de inóculo de *Meloidogyne javanica* no trigo mourisco, analisar o efeito de extratos aquosos da planta sobre a mortalidade e eclosão do nematoide; e avaliar a produção de enzimas de resistência pela planta infectada. A avaliação da reprodução foi conduzida em casa de vegetação, com cinco tratamentos (níveis de inóculo) e oito repetições e a de mortalidade e eclosão foi estudada *in vitro*, em fatorial 3 x 4 (três formas de extração de compostos e quatro doses), com seis repetições. Por fim, foi avaliada a produção de fenilalanina amônia-liase (PAL) em plantas inoculadas com o nematoide. O trigo mourisco apresentou fator de reprodução superior a um, mas inferior à testemunha, em todos os níveis de inóculo. Os extratos aquosos promoveram mortalidade e reduziram a eclosão de juvenis de *M. javanica*. Não houve aumento na produção de PAL após inoculação das plantas.

Introdução

Nematoides das galhas (*Meloidogyne javanica* e *M. incognita*) estão entre os organismos que causam maiores prejuízos para a agricultura e o manejo destes parasitas é complexo, visto que práticas isoladas não surtem o efeito esperado. No manejo integrado, a rotação e/ou sucessão de culturas destaca-se entre as práticas mais importantes, e o uso de plantas não hospedeira ou antagonistas pode reduzir a população abaixo do limiar de dano econômico (CHITWOOD, 2002).
Apesar do potencial antagonista de várias espécies vegetais para o uso em sucessão com a soja, a introdução no sistema de manejo integrado depende da aceitação por parte dos produtores rurais, que optam por culturas que garantem algum retorno econômico ou que são de fácil manejo, baixo custo e/ou tragam benefícios ao sistema. Neste contexto, o trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*), planta da família Polygonaceae, pode ser uma opção na sucessão de culturas soja

ou milho, visto desenvolver-se bem em solos ácidos, e ser uma opção como adubo verde (ALVES et al., 2017). Porém, pouco se sabe a respeito da reação desta planta frente aos nematoides. Assim, objetivou-se avaliar a reação do trigo mourisco a níveis de inóculo de *M. javanica*; o efeito de extratos aquosos das folhas sobre a eclosão e mortalidade e a produção de enzima de resistência pela planta infectada.

MATERIAIS E MÉTODOS

A reação do trigo mourisco a níveis crescentes de inóculo foi avaliada em casa de vegetação, da UEM, Campus Regional de Umuarama, em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições para cada tratamento. Inicialmente, sementes de soja cv. M6210 e trigo mourisco cv. IPR 92-Altar foram semeadas em recipientes contendo 500 ml de solo: areia (1: 1), previamente autoclavado (120 ºC 2 h^{-1}). Cinco dias após germinação, as plantas foram inoculadas com níveis crescentes do nematoide: 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 distribuídos em um volume de suspensão de 2 ml. O inóculo foi obtido de uma população pura, mantidas em soja, sendo extraídos das raízes pelo método proposto por Boneti e Ferraz (1981). Soja inoculada com 4000 ovos foi utilizada para comprovar a viabilidade do inóculo. Após 60 dias da inoculação, as plantas foram coletadas e avaliadas quanto a altura, massa fresca e seca da parte aérea e massa fresca da raiz. As raízes foram submetidas ao processo de extração de nematoide, sendo a suspensão analisada em câmara de Peters sob microscópio de luz. Avaliou-se o total de nematoides, nematoides g^{-1} de raiz e fator de reprodução (FR=população final/população inicial).
O teste de mortalidade e eclosão de juvenis submetidos a extratos aquosos de trigo mourisco foi conduzido em DIC, em fatorial 3 x 4 (três formas de preparo de extratos x quatro doses), com seis repetições. Folhas de trigo mourisco foram coletadas e submetidas à extração aquosa por maceração a frio, infusão e autoclavagem. Usou-se 1 g de folhas para 10 ml de água. No primeiro método, as folhas foram maceradas e adicionou-se água destilada em temperatura ambiente. Na infusão, após maceração adicionou-se água a 100 ^{o}C sobre o material. No processo de autoclavagem, o material picado e a água foram adicionados em erlenmeyer e submetido a autoclavagem por 20 minutos a 120 ^{o}C. Para todos os métodos, após repouso de 24 horas, os extratos foram filtrados usando gaze, sendo considerado o padrão para diluições de 0, 10, 20 e 30%.
Para o teste de eclosão, 0,5 ml da suspensão contendo 100 ovos foi adicionado 5 ml do extrato vegetal. Este foi incubado a 27^{o}C em BOD no escuro e avaliado após 15 dias, contando-se número de juvenis eclodidos e ovos remanescentes. Os valores foram expressos em porcentagem de eclosão. O teste de mortalidade foi conduzido da mesma forma, contudo os juvenis foram obtidos em Funil de Baermann, em 48 horas de incubação, e avaliou-se, após 24 horas os juvenis vivos e mortos, sendo o resultado expresso em porcentagem de mortalidade.
Para avaliar a produção de fenilalanina amonialiase (FAL), o trigo mourisco foi cultivado em tubetes, contendo 170 mL de solo: areia 1:1. Cinco dias após a germinação, as plantas foram inoculadas com 1 mL de uma suspensão com 2000 ovos de *M. javanica*. Após 0, 4, 8 e 11 dias da inoculação, foram coletadas cinco amostras, separando-se parte aérea e raiz. As amostras foram pesadas, maceradas em N_2 líquido, em almofariz com 4 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH

7,0), 0,1 mM EDTA e 1% (p/p) de polivinil-pirrolidona, e centrifugadas por 30 minutos a 15.000 rpm a 4 °C. O sobrenadante foi acondicionado em microtubos e mantidos em -20 °C, considerado como extrato enzimático utilizado para a determinação de PAL. A atividade foi determinada de acordo com Mori et al. (2001). As leituras foram realizadas em espectofotômetro a 290 nm, e os resultados expressos em ácido transcinâmico por mg de proteína.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para níveis de inóculo houve ajuste quadrático nos parâmetros nematoide total (Figura 1A) e nematoide por grama de raiz (Figura 1B), contudo, os pontos de máxima não foram alcançados dentro dos níveis de inóculo adotados, pois seriam de, aproximadamente, 4.760 e 5.930, respectivamente.

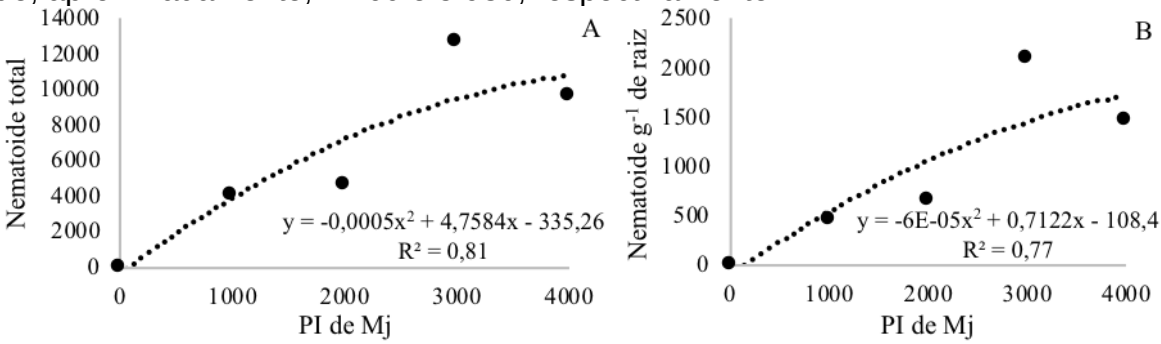

Figura 1. Número total de nematoides (ovos + J2) e nematoide por grama de raiz de trigo mourisco, submetido a níveis crescentes de população inicial (PI) de *Meloidogyne javanica* (Mj).

O FR de *M. javanica* no trigo mourisco foi de 4,11; 1,33; 3,28 e 2,41 para os níveis de inóculo de 1000, 2000, 3000 e 4000 nematoides, respectivamente. Na soja, o FR foi de 24. Apesar da suscetibilidade do trigo mourisco ao nematoide, o FR foi 83 a 95% inferior àquele observado para a soja, mostrando que esta planta pode ser uma opção de rotação, evitando o aumento expressivo do nematoide que a soja ou o milho proporcionam. Houve redução na massa seca da parte aérea do trigo submetido aos níveis crescentes de inóculo (y=-0,0004x+4,244. R^2= 0,95). Contudo, não houve ajuste de equação para os demais parâmetros vegetativos estudados.

Houve interação entre os fatores para a mortalidade (Figura 3) e observou-se que todos os extratos promoveram aumento na mortalidade de juvenis de *M. javanica*. Para extrato autoclavado o aumento foi linear à dose utilizada, enquanto para infusão e maceração, o ajuste foi quadrático, com pontos de máxima próximos a 27,5%. Estudando as doses dentro do extrato, notou-se que não houve diferença na dose zero, mas nas demais doses, houve maior mortalidade no extrato macerado.

Não houve interação entre os fatores para a porcentagem de eclosão, contudo os fatores isolados foram significativos. Para dose, observou-se menor eclosão aplicando-se o extrato a 20,67%. Para os métodos de preparo, a autoclavagem resultou em extratos mais efetivos, com porcentagem de eclosão de 23,68%, sendo esta inferior a infusão (41,42%), e ambas estatisticamente iguais a maceração (31,11%). Esses dados indicam que, durante a decomposição da parte aérea do trigo mourisco, pode haver liberação de substâncias com efeito deletério ao nematoide, reforçando a hipótese do seu potencial para uso em coberturas de solo.

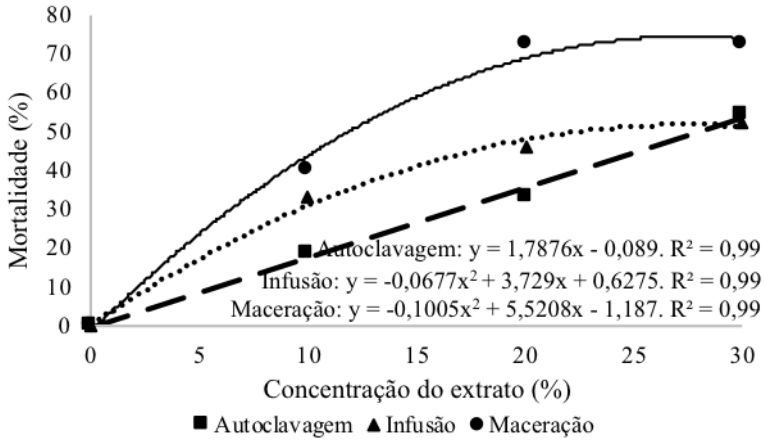

Figura 2. Porcentagem de mortalidade de *M. javanica* expostos a extratos aquosos da parte aérea do trigo mourisco, obtidos por autoclavagem, infusão e maceração, sob concentrações crescentes.

Não houve aumento significativo da PAL em trigo mourisco infectado pelo nematoide. A quantidade de PAL observada foi de 0,2922; 0,3823; 0,2755 e 0,3048 mg de ácido transcinâmico mg^{-1} proteína, nas avaliações realizadas aos 0, 4, 8 e 11 dias após a inoculação, respectivamente.

CONCLUSÕES

Trigo mourisco cultivar IPR 92-Altar é suscetível a *M. javanica*, mas o fator de reprodução é inferior àquele observado na soja, independente do inóculo inicial. Os extratos aquosos da parte aérea da planta causam mortalidade e reduzem eclosão do nematoide. O nematoide não afeta a produção de fenilalanina amônia-liase.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/UEM/FA pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.

ALVES, J.; MORAIS MOURÃO SIMONETT, A. **Alelopatia de trigo mourisco sobre a cultura da soja**. Revista Cultivando o Saber, n. Volume 10, p. p. 97 a 105., 2017.

BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, p.553, 1981.

MORI, T.; SAKURAI, M; SAKUTA, M. Effects of conditioned médium on activities of PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and DS-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragaria ananassa*. **Plant Science**, v. 160, n. 2, p. 355-360, 2001.