## Variabilidade espacial de Meloidogyne javanica em soja

Andressa Lima de Brida<sup>1</sup>; Adriana Aparecida Gabia<sup>1</sup>; José Carlos Pezzoni Filho<sup>1</sup>; Diego Augusto de Campos Moraes<sup>2</sup>; Silvia Renata Siciliano Wilcken<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu, SP, CEP: 18.610-307. <sup>2</sup>Departamento de Solos e Recursos Ambientais, Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu, SP, CEP: 18.610-307.

Autores para correspondência: Andressa Lima de Brida (andressa\_brida23@hotmail.com); Silvia Renata Siciliano Wilcken (srenata@fca.unesp.br). Data de chegada: 18/11/2015. Aceito para publicação em: 19/01/2016.

10.1590/0100-5405/2140

## **RESUMO**

Brida, A.L.; Gabia, A.A.; Pezzoni Filho, J.C.; Moraes, D.A.C.; Wilcken, S.R.S. Variabilidade espacial de Meloidogyne javanica em soja *Meloidogyne javanica* em soja. *Summa Phytopathologica*, v.42, n.2, p.175-179, 2016.

A soja é considerada uma das mais importantes culturas do agronegócio no Brasil. Os levantamentos populacionais de fitoparasitos, é uma ferramenta importante na presença de nematoides e na detecçao dos prejuizos. O presente estudo teve como objetivo, utilizando como ferramenta, a geoestatística, verificar a variabilidade espacial de *Meloidogyne javanica* em duas lavouras de soja, uma apresentando plantas com sintomas característicos do parasitismo do nematoide e outra área com plantas sem sintomas. O estudo foi realizado no município de Araruna, estado do Paraná, ambas cultivadas com soja cultivar BMX Potência RR. Coletaram-se solo e raiz seguindo malha irregular de 50 pontos georreferenciados. Para verificar a existência e estimar o grau de dependência espacial entre as populações, utilizou-se a análise geoestatística. Após o ajuste do variograma foi realizado a krigagem e sequencialmente o mapa de distribuição espacial de nematoides nas áreas. Todo processo geoestatístico foi realizado com o programa computacional GS+. Somente em quatro pontos foram detectados nematoides nas amostras

de solo, e em baixo nível populacional, por isso, tais dados não foram analisados com a geoestatística. Na área apresentando plantas amareladas e com tamanho reduzido, em 60% das amostras foi detectado a presença de *M. javanica*, sendo que a população obtida variou de 0 a 70.992 nematoides em 10g de raiz, com média de 3.807. O variograma ajustou-se ao modelo esférico, com alcance de 30,80 m e dependência espacial de 86%, nesse caso seria necessária a coleta de nove subamostras para representar um hectare de forma satisfatória. Na área onde não foram observadas plantas com sintomas visíveis, 38% das amostras estavam com *M. javanica*, e com baixo nível populacional. A população obtida variou de 0 a 2.184 nematoides em 10g de raiz, com media de 262. O alcance obtido foi de 11,60 m, com dependência espacial de 99% e ajuste ao modelo gaussiano, já nesse caso, seria necessária a coleta de 74 subamostras para a representação satisfatória de um hectare. A análise geoestatística mostrou-se eficiente para estudos de distribuição espacial de nematoides fitoparasitas.

Palavras-chave: distribuição horizontal, nematoide das galhas, geoestatística.

## **ABSTRACT**

Brida, A.L.; Gabia, A.A.; Pezzoni Filho, J.C.; Moraes, D.A.C.; Wilcken, S.R.S. Spatial variability of *Meloidogyne javanica* in soybean. *Summa Phytopathologica*, v.42, n.2, p.175-179, 2016.

Soybean is considered one of the most important crops for agribusiness in Brazil. Surveys of plant parasitic populations constitute an important tool to detect the presence of nematodes and losses. This study aimed to use geostatistics as a tool to check the spatial variability of *Meloidogyne javanica* in two soybean crops, one of which presented plants with symptoms characteristic of nematode parasitism and the other area had plants without symptoms. The study was conducted in the city of Araruna, Paraná State, and both areas were cultivated with soybean cultivars BMX Power RR. Soil and root were collected by following irregular grid of 50 georeferenced points. To check and estimate the degree of spatial dependence among the populations, geostatistical analysis was used. After adjusting the variogram, kriging and sequentially the spatial distribution map of nematodes in the areas were obtained. The whole geostatistical process was carried out with the computer program GS +. Only at four points, nematodes were detected in soil samples and

at low population level; thus, such data were not analyzed by means of geostatistics. In the area presenting yellowish plants reduced in size, the presence of *M. javanica* was detected in 60% of the samples, where the obtained population ranged from 0 to 70,992 nematodes in 10g root, with an average of 3,807. The variogram fit to the spherical model, with a range of 30.80 m and spatial dependence of 86%; then, the collection of nine subsamples would be required to satisfactorily represent a hectare. In the area where plants with visible symptoms were not observed, 38% of the samples had M. javanica and at low population level. The obtained population ranged from 0 to 2,184 nematodes in 10g root, with an average of 262. The obtained range was 11.60 m, with spatial dependence of 99% and fitting to the Gaussian model, since in this case the collection of 74 subsamples would be required for satisfactory representation of a hectare. The geostatistical analysis was efficient for spatial distribution studies of plant parasitic nematodes.

Keywords: horizontal distribution, knot-root, geostatistics.

A cultura da soja é, desde os anos de 1970, responsável por inúmeras mudanças no espaço agrário brasileiro, e atualmente a soja o principal produto agrícola das exportações brasileiras e o maior responsável pelo

aumento da colheita nacional de grãos (5).

Os nematoides de plantas são frequentes e causam grandes problemas a cultura. Mais de 100 espécies de nematoides, envolvendo

cerca de 50 gêneros, foram associadas a cultivos da soja em todo o mundo. No Brasil, os nematoides mais prejudiciais à cultura têm sido os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.), o de cisto (*Heterodera glycines*), o das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e o reniforme (*Rotylenchulus reniformis*). Entre os nematoides de galhas, *Meloidogyne javanica* tem ocorrência generalizada causando danos crescentes e severos à cultura (6).

Nas áreas onde há presença dos nematoides de galha, observam-se manchas em reboleiras nas lavouras, onde as plantas ficam pequenas e amareladas. Às vezes, pode não ocorrer redução no tamanho das plantas, mas por ocasião do florescimento, nota-se intenso abortamento de vagens e amadurecimento prematuro das plantas atacadas. Nas raízes, observam-se galhas em números e tamanhos variados, dependendo da suscetibilidade da cultivar de soja e da densidade populacional do nematoide (6).

A geoestatística baseia-se na teoria das variáveis regionalizadas, criada por Matheron (10), que pode ser definida como uma função espacial numérica, que varia de um local para outro, com uma continuidade aparente, e essa continuidade é estimada por meio do semivariograma (17). Os semivariogramas expressam o comportamento espacial da variável regionalizada ou de seus resíduos, mostram o tamanho da zona de influência em torno de uma amostra, a variação nas diferentes direções do plano estudado e a continuidade da característica estudada no mesmo (9,18).

Depois de verificada a dependência das amostras, pode-se utilizar a krigagem. E um método de interpolação que usa a dependência espacial entre as amostras vizinhas para estimar valores em qualquer posição dentro do campo experimental, sem tendência e com variância mínima (17). A cota de um ponto de interesse é calculada por meio da média ponderada das amostras vizinhas, distribuindo os pesos de acordo com a variabilidade espacial, determinada por meio de análise geoestatística, que por sua vez, fornece coeficientes utilizados para controle da interpolação, que descrevem em semivariogramas, a variabilidade espacial do conjunto analisado (18).

O presente estudo teve como objetivo, utilizando como ferramenta a geoestatística, verificar a variabilidade espacial de *Meloidogyne javanica* e definir o número de subamostras necessário para representar satisfatoriamente um hectare. Para tal, duas lavouras de soja foram amostradas, uma apresentando plantas com sintomas característicos do parasitismo do nematoide e outra área com plantas sem sintomas.

O estudo foi realizado no município de Araruna, estado do Paraná, coordenadas geográficas: Latitude: -23.929, Longitude: -52.5012 23° 55′ 44″ Sul, 52° 30′ 4″ Oeste e altitude de 610 metros, em áreas cultivadas com soja, cultivar BMX Potência RR. As amostras de solo e raiz foram coletadas em duas áreas distintas, porém, ambas com um hectare, e com plantas no estádio fenológico R2. Uma área apresentando plantas pequenas e amareladas, distribuídas em áreas com sintomas do ataque do nematoide e outra área sem sintomas de ataque, seguindo uma malha irregular de 50 pontos georreferenciados.

O solo foi separado das raízes e homogeneizado para a retirada de 250 mL utilizado para a extração dos nematoides, seguindo processamento por peneiramento e flutuação em centrífuga (8). As raízes das amostras foram separadas, lavadas e pesadas. Em seguida, 10 g de raiz foram utilizadas para a extração dos nematoides, seguindo a de metodologia trituração, peneiramento e centrifugação (3).

A contagem dos nematoides foi efetuada com o auxílio de lâmina de Peters sob microscópio de luz. Para a identificação da espécie de *Meloidogyne*, fêmeas foram retiradas das raízes das plantas e a identificação foi realizada por meio do padrão perineal e da análise eletroforética da isoenzima esterase de acordo com o método proposto por Oliveira et al. (12).

Para verificar a existência e estimar o grau de dependência espacial entre as populações, utilizou-se a análise geoestatística. Com o ajuste do variograma, por meio de um modelo matemático teórico, foi possível estimar os valores. Após o ajuste do variograma foi realizado a krigagem, a qual usou informações a partir do variograma para encontrar os pesos ótimos a serem associados às amostras com valores conhecidos que estimaram pontos desconhecidos.

Após a realização da krigagem, o mapa de distribuição espacial de nematoides nas áreas analisadas foram confeccionados. Todo processo geoestatístico foi realizado com o programa computacional GS+

Os dados das amostras de solo não foram analisados com a geoestatística, pois somente em quatro pontos foram detectados nematoides e em baixo nível populacional. Isso devido ao estado fenológico da planta em que foi realizada a amostragem, pois a maior parte dos nematoides se encontrava na raiz. Cantu (2), avaliando a resistência de porta-enxertos de tomateiro a *M. mayaguensis*, não detectou indivíduos no solo amostrado, verificando que os ovos e juvenis de segundo estádio recuperados estavam presentes nas massas de ovos do nematoide, ainda presas no sistema radicular das plantas estudadas.

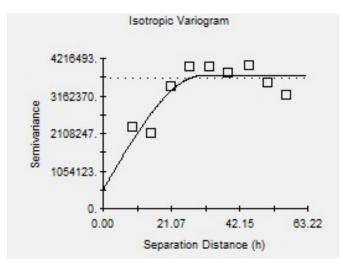
Na área apresentando plantas amareladas e com tamanho reduzido, em 60% das amostras foi detectado a presença de *M. javanica*, sendo que a população obtida variou de 0 a 70.992 nematoides em 10g de raiz, com média de 3.807. Já na área onde não foram observadas plantas com sintomas visíveis, 38% das amostras estavam com *M. javanica*, e menor nível populacional. A população obtida variou de 0 a 2.184 nematoides em 10g de raiz, com média de 262.

Na área com alto índice de infestação dos nematoides, o variograma resultante para as estimativas das populações ajustou-se ao modelo esférico (Figura 1). O alcance obtido foi de 30,80 m, demonstrando que os valores localizados acima desta distância são independentes, espacialmente em relação aos valores vizinhos. O efeito pepita, que é a descontinuidade na origem do semivariograma, ou seja, corresponde à diferença entre as amostras de maior proximidade, afetou levemente o índice de dependência espacial (IDE), que resultou em 86% (Tabela 1), indicando forte dependência espacial (16). Uma redução na distância entre as amostras utilizadas nos cálculos do variograma poderia ter otimizado a dependência espacial entre as mesmas.

Na área que foi detectada baixa infestação de *M. javanica*, verificou-se ajuste dos dados, demonstrando que houve correlação espacial entre as populações encontradas nas amostras nematológicas. O alcance obtido apresentou distância de 11,60 m, ou seja, amostras com espaçamentos maiores que este são independentes espacialmente. O efeito pepita afetou o índice de dependência espacial (IDE) em 1% somente, sendo praticamente insignificante, resultando em 99% (Tabela 1), indicando forte dependência espacial (18). Isto significa que de todos os pontos estimados pelo programa, somente 1% do valor estimado foi diferente do valor real encontrado nas amostras analisadas. O variograma resultante apresentou ajuste com o modelo gaussiano (Figura 1).

O coeficiente de regressão obtido para área com alta infestação foi de 1,002 (Figura 2), ou seja, os valores estimados são próximos aos amostrados, viabilizando fortemente o processo de interpolação por krigagem, demonstrando confiabilidade na utilização dos dados para confecção do mapa de distribuição espacial de *M. javanica*.

Para a análise da área com baixa infestação, o coeficiente de regressão encontrado foi de 0,796 (Figura 2), ou seja, os valores



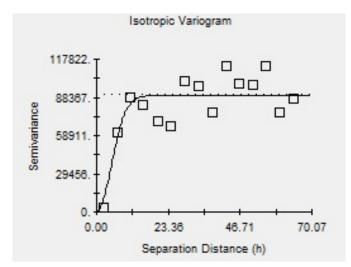


Figura 1. Variogramas das populações de Meloidogyne javanica obtidos nas áreas com alta e baixa infestação, respectivamente.

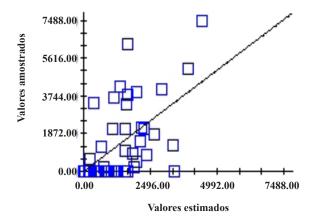
**Tabela 1.** Parâmetros e modelo de ajuste do variograma para a área experimental.

Área	Modelo	A <sub>0</sub> (m)	C <sub>0</sub>	C+C <sub>0</sub>	IDE (%)
Alta infestação	Esférico	30,80	530.000,00	3.739.000,00	86,00
Baixa infestação	Gaussiano	11,60	100,00	89.700,00	99,00

 $\mathbf{A_0}$ : Valor do alcance obtido;  $\mathbf{C_0}$ : Efeito Pepita;  $\mathbf{C}+\mathbf{C_0}$ : Patamar; IDE: Índice de Dependência Espacial.

amostrados se afastaram pouco da linha dos valores estimados, mas tem sua confiança assegurada, uma vez que apresentou Índice de Dependência Espacial (IDE) forte, com valor igual a 99%, estando acima de 75% conforme proposto por Zimback (18).

O mapa da área com alta infestação de *M. javanica* foi obtido pelo processo de interpolação por krigagem, sendo que a área na cor vermelha apresentou população máxima, 7.488 mil nematoides em 10g de raiz (Figura 3), e nas áreas em azul escuro não foram detectados nematoides. Para a área com baixa infestação, o mapa da distribuição espacial, apresentou duas manchas com populações mais elevadas do nematoide, sendo representadas na cor vermelha mais escura, com máximo de 990 nematoides em 10g de raiz, e as áreas em azul escuro, mostram as regiões onde não foram detectados nematoides (Figura 4).



Coeficiência de Regressão=1.002

**Figura 2**. Validação cruzada das amostras de raiz coletadas em áreas com alta e baixa infestação de *Meloidogyne incognita*, respectivamente.

O alcance na área com alto índice de infestação foi de 30,80 m, isso significa que nesse raio, todos os pontos amostrados são dependentes. Essa dependência é afetada diretamente pelo nível populacional dos nematoides e pela distribuição desses no solo. Quanto maior for sua distribuição, maior será o raio de alcance de dependência (18). Na área onde não foram observados sintomas visíveis e somente em 38% das amostras foi detectado o nematoide, o alcance encontrado foi de apenas 11,60 m, ou seja, há uma dependência espacial apenas dentro deste raio. Para realização de amostragens, esse resultado é de extrema importância, pois ajuda a determinar o número adequado de subamostras a serem coletadas. Quando o raio de dependência for maior, menor número de subamostras será necessário. Nesse estudo, calcula-se por meio do alcance (30,80 m), que são necessários nove subamostras por hectare para compor uma amostra representativa da área com alta infestação, semelhantes aos indicados por Southey (15) que são aproximadamente 12 subamostras/ha. Na área com baixa infestação, o alcance (11,60 m) demonstrou que são necessários 74 subamostras para se amostrar de forma satisfatória um hectare.

Assim, a metodologia utilizada para amostragem não pode ser a mesma em áreas com diferentes níveis populacionais, como demostram os dados acima. Em áreas com baixo nível populacional, maior número de subamostras deve ser retirado.

A detecção de infestação de fitonematoides em fase inicial numa área agrícola é muito difícil de ser bem sucedida utilizando a metodologia de amostragem consagrada na literatura, que varia de 25-50 pontos em 2-4 hectare (15).

Dinardo-Miranda e Fracasso (4), estudando a distribuição de nematoides parasitas de plantas em 10 áreas de cultivo de cana-deaçúcar, determinaram o alcance de 35 m em uma das áreas infestadas com *M. javanica*. Sendo assim, verificaram serem necessários cinco pontos de amostragem por hectare para a representação da população desse nematoide nessa área. Entretanto, em outras quatro áreas ocorreram efeito pepita puro, ou seja, houve ausência total de dependência espacial, ou se a dependência espacial existiu, foi manifestada a uma distância menor do que o menor espaçamento entre os pontos amostrados no campo (14).

Farias et al., (7) estudaram a distribuição espacial de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira em área cultivada com algodão, naturalmente infestada, considerando uma população relativamente baixa, com média de 250 nematoides por 300 g solo. O alcance obtido foi de 8,5 m. Com esse alcance, verifica ser necessária a

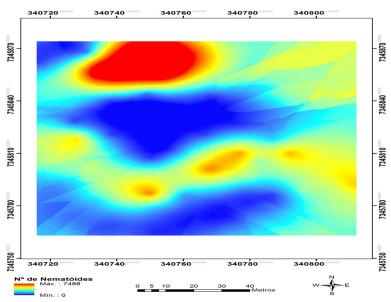


Figura 3. Mapa da distribuição espacial de Meloidogyne javanica em área com alta infestação.

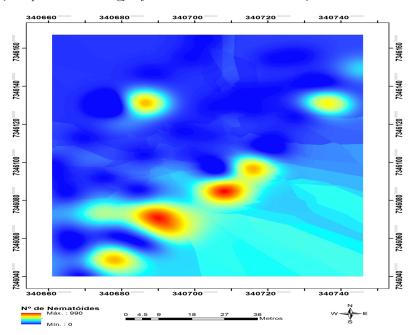


Figura 4. Mapa da distribuição espacial de Meloidogyne javanica em área com baixa infestação.

coleta de aproximadamente 120 subamostras para obter uma amostra representativa de um hectare da área em estudo.

Ortiz et al., (13) estudaram duas áreas altamente infestadas com *Meloidogyne incognita*, obteve alcances de 117 m e 257 m. Mostrando que em ambas as áreas estudadas, somente um ponto por hectare seria suficiente para detectar a presença do nematoide.

Portanto, a utilização da geoestatística não seria recomendada para a análise populacional de nematoides em áreas em que este esteja ausente em vários pontos de subamostragem. Fato que ocorre, em geral, em áreas com infestação inicial, que em muitas vezes, a população do nematoide ainda se encontra baixa e pouco disseminada pelo talhão.

Na área onde o nematoide encontrava-se em maior distribuição no solo e com alto nivel populacional, sintomas visíveis como amarelecimento de plantas e redução no tamanho das mesmas foram facilmente observados. Entretanto, na área onde seu nível populacional foi menor e sua disribuição espacial restrita, não foram observados nenhum tipo de sintomas nas plantas. Isso mostra que muitas vezes uma área já esta infestada por fitonematoides, porém, nem sempre sintomas nas plantas podem ser observados, fazendo com que, quando o mesmo seja detectado, sua população se encontra em alto nível, dificultando seu controle.

Portanto, técnicas de manejo visando à manutenção de baixos níveis populacionais de fitonematoides deveriam fazer parte do método produtivo, mesmo em áreas sem sintomas, por exemplo, a adoção de rotação de culturas com plantas para adubação verde com resistência a varias espécies de nematoides e que proporcione elevação no teor de matéria orgânica (1), ou mesmo a aplicação de produtos biológicos a fim de aumentar a população de inimigos naturais (11).

O número de pontos a serem amostrados varia de acordo com o nível populacional do nematoide presente na área.

A geoestatística pode ser utilizada para determinação da distribuição dos nematoides em casos em que a população esteja estabelecida na área, não sendo recomendada para áreas com vários pontos subamostrais sem a detecção do nematoide.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anastasiadisa, I.A.; Giannakoub, I.O.; Prophetou-Athanasiadouc, D.A.; Gowena, S.R. The combined effect of the application of a biocontrol agente *Paecilomyces lilacinus*, with various practices for the control of root-knot nematodes. Crop Protection, Amsterdam, v. 27, n.3-5, p. 352–361, 2008.
- Cantu, R.R.; Wilcken, S.R.S.; Rosa, J.M.O.; Goto, R.. Reação de portaenxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne mayaguensis*. Summa Phytopathologica, v.35, n.3, p.216-218, 2009
- Coolen, W.A.; D'Herde, C.J. A method for quantitative extration of nematodes from plant tissue. Ghent: Nematology Research Station, 1972. 77p.
- Dinardo-Miranda, L.L.; Fracasso, J.V. Spatial distribution of plant-parasitic nematodes in sugarcane fields. Scientia Agrícola (USP.Impresso), v. 66, n.2, p.188-194, Piracicaba, 2009.
- Espíndola, C.J.; Cunha, R.C.C.A dinâmica geoeconômica recente da cadeia produtiva da soja no Brasil e no mundo. GeoTextos, Canela, v. 11, n. 1, p. 217-238, 2015.
- 6. ÉMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Sistemas de Produção: Tecnologias de Produção de Soja na Região Central do Brasil, Embrapa Soja, Londrina, Embrapa Cerrados, Planaltina, Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, 2005, 239 p.
- Farias, P.R.S.; Sanchez-Vila, X.; Barbosa, J.C.; Vieira, S.R.; Ferraz, L.C.C.B.; Solı's-Delfin, J. Using Geostatistical Analysis to Evaluate the Presence of *Rotylenchulus reniformis* in Cotton Crops in Brazil: Economic Implications. Journal of Nematology. n.34, v. 3, Leinden, p.232–238, 2002.

- Jenkins, W.R. A rapid centrifugal-flootation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, Beltisville, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.
- Landim, P.M.B. Análise estatística de dados geológicos. São Paulo, Fundação Editora da UNESP, (Ciência e Tecnologia), 1998, 226 p.
- Matheron, G. Principles geostatistics. Economic Geology, El Paso, v. 58, p. 11246-66, 1963.
- 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.
- Oliveira, C.M.G.; Tomazini, M.D.; Bessi, R.; Inomoto, M.M. Nematoides. In: Eiras, M.; Galleti, S.R. (Org.). Técnicas de Diagnóstico de Fitopatógenos. São Paulo: Devir Livraria, 2012, v. 1, p.103-135.
- 13. Ortis, B.V.; Perry, C.; Goovaerts, P.; Vellides, G.; Sullivan, D. Geostatistical modeling of the spatial variability and risk áreas of Southern root-knot nematodes in relation to soil propities. **Geoderma.** 2010;156(3-4): 243-252. Doi: 10.1016/j.geoderma.2010.02.024.
- 14. Silva, A.F.; Quartezani, W.Z.; Zimback, C.R.L.; Landin, P.M.B. Aplicação da Geoestatística em Ciências Agrárias. Botucatu, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2011, 139p.
- Southey, J.F. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods, HMSO Books, London 1986, 202p.
- 16. Vieira, S.R. Geoestatística em estudos de variabilidade espacial do solo. In: Novais, R. F.; Alvarez, V.V.H.; Schaefer, C.E.G.R. (Ed.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 1-54.
- 17. Zimback, C.R.L. Análise espacial de atributos químicos de solos para fins de mapeamento da fertilidade. 2001. 114 f. Tese (Livre-Docência em Levantamento do solo e Fotopedologia)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Zimback, C.R.L. Geoestatística: Elementos da Geoestatística. Botucatu, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2003, 25p.