



ANÁLISE DE NEMATÓIDE PATOGENICOS E NÃO PATOGENICOS COMO INDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO

Clarissa Baldim Rabelo¹, Paula Rachel Rabêlo Correa²

¹UNIS-MG, Varginha, MG, clarissambr@gmail.com

²UNIS-MG, Varginha, MG, E-mail:paula.correa@unis.edu.br

RESUMO

O agronegócio rendeu ao Brasil 177,1 bilhões no ano de 2021 e esse ganho foi sustentado graças a muitas pesquisas e novas tecnologias. O excelente desempenho não está sendo acompanhado pelas tecnologias para avaliar os índices de qualidade biológicas, quando os cultivos utilizam microrganismos para ativar a fertilidade do solo. Esta deficiência de informação inibe o uso franco dos microrganismos na implantação de práticas manejo e monitoramento de fertilidade. Diante desta realidade este trabalho teve como objetivo pesquisar a montagem de um protocolo simples e eficiente para nematoides patogênicos e não patogênicos de solo, devido sua importância na ciclagem de nutrientes e do excelente potencial do grupo como indicador de qualidade do solo. O estudo apresentou eficiência na extração de nematoides nos três métodos testados.

Palavras-chave: Extração de Nematoides. Jenkins, BaermannPalavra2. Saúde do solo.

1 INTRODUÇÃO

A crescente importância do agronegócio para a economia brasileira, com ganhos superiores a 177,1 bilhões de reais no 2022 e projeções superiores para 2023, tem demandado o



desenvolvimento de novas tecnologias e práticas sustentáveis. Um dos grandes desafios enfrentados pelo setor está na melhoria das ferramentas de monitoramento da qualidade do solo, especialmente quando se utiliza microrganismos para promover a fertilidade. Apesar do reconhecimento da eficácia dos microrganismos no incremento da produtividade agrícola, há uma carência de metodologias acessíveis para avaliar a saúde do solo com base na presença de nematoides, organismos que podem funcionar como importantes bioindicadores. Os nematoides, tanto patogênicos quanto não patogênicos, desempenham um papel importante na ciclagem de nutrientes e no controle de pragas, mas sua identificação em larga escala ainda enfrenta obstáculos devido à necessidade de equipamentos especializados e conhecimento técnico avançado.

Apesar dos nematelmintos terem todos os requisitos para serem excelentes indicadores de qualidade e controladores de pragas eles raramente são coletados e analisados. Mesmo quando os sinais e sintomas nas lavouras ou sistemas agroflorestais indicam a contaminação com nematoides patogênicos, o mais comum, é fazer o controle do nematódeo sem qualquer análise laboratorial. Esta situação acontece porque as metodologias disponíveis para analisar nematelmintos exigem o conhecimento de taxonomia e conhecimento para identificação de características morfológicas do grupo. Pode-se observar que existe um gargalo na metodologia que dificulta a diferenciação dos diversos gêneros e espécies desse grupo. Esta exigência da metodologia disponível provoca um atraso muito grande para a dinâmica da agronomia moderna, porque não existem muitos profissionais com esta qualificação e os existentes encontram-se em grandes centros universitário que possuem microscópios e equipamentos caros e profissionais muito qualificados, especialistas na área. No entanto, apesar da grande estrutura estes centros possuem uma baixa qualidade na prestação de serviço para a comunidade e o custo do transporte onera mais ainda o custo das análises. Com esta limitação a análise dos anelídeos não é utilizada para análises de qualidade e fertilidade dos solos. Na prática, estas limitações inviabilizam o uso desta metodologia para análises de rotina nos laboratórios de solo.



Diante deste cenário, este trabalho tem como objetivo pesquisar a montagem de um protocolo simples e eficiente para extração de nematoides de solo devido sua importância na ciclagem do solo e do excelente potencial do grupo como indicador de qualidade do solo.

2 DESENVOLVIMENTO

O agronegócio foi responsável por 177, 0 bilhões do PIB de Minas Gerais no ano de 2021 e com tendência de números maiores para o ano de 2022 e ótimas projeções para 2023, segundo a Fundação João Pinheiro (2021). Este bom desempenho é consequência de muitas pesquisas e auxílio de novas tecnologias que vem revolucionando o setor. No entanto, o mercado sinaliza que alimentos produzidos com baixo impacto ambiental serão mais bem remunerados. Esta tendência terá fortes impactos na agricultura, que irá buscar novas formas de manejos para atender este anseio da sociedade. Neste sentido os microrganismos são uma alternativa bastante eficiente. Os estudos sobre microrganismo do solo revelam que as relações entre eles e as plantas são bem mais complexas do que os pesquisadores inicialmente imaginavam. Na verdade, esta conexão é evolutiva, ou seja, os microrganismos e as plantas evoluíram juntos, construindo uma relação de dependência, similar ao que aconteceu com as fanerógamas e seus respectivos polinizadores.

Atualmente, sabe-se que por trás de cada mineral existe um microrganismo que irá disponibilizar este mineral para as plantas. Com esta nova relação, já bem descrita por Ingham (2019), não adianta disponibilizar fertilizantes no solo sem a presença dos microrganismos corretos junto à rizosfera, porque sem eles, os fertilizantes, mesmo quando presentes no solo, não ficam disponíveis às plantas.

Outro fator que é influenciado pela relação microrganismo-rizosfera é o formato e a distribuição das raízes no solo e, neste caso, os protozoários desempenham um papel fundamental, principalmente nos capins, cereais e cana de açúcar. Os protozoários são considerados excelentes indicadores de qualidade por conta da distribuição das suas classes serem bem definidas para cada tipo de solo. Os flagelados são mais comuns em solos mais secos e de preferência nativos. Os ciliados estão mais presentes em solos irrigados ou encharcados



cheios de bactérias e podem ser indicativos de anaerobiose e de compactação. As amebas, no entanto, estão presentes em praticamente em todos os solos e são boas indicadoras de solos com boa oxigenação, desde que sejam de vida livre. A introdução de amebas durante o desenvolvimento inicial das plantas pode estimular o crescimento das raízes, por conta da auxina liberada pelos protozoários quando estão próximo da rizosfera.

O principal alimento dos protozoários e nematóides são fungos e bactérias, portanto eles funcionam como controladores da população destes microrganismos, evitando, assim, que causem doenças às raízes das plantas. Com a fatura de fungos e bactérias na rizosfera aumenta o número de protozoários e nematelmintos e, isto terá influência direta na composição da matéria orgânica. Os protozoários também são fonte de alimento para nematoides de vida livre. A presença desta teia alimentar complexa próxima da rizosfera funciona como uma barreira ao crescimento de nematoides patogênicos (Brevik et al, 2015), agindo como protetores das plantas.

Os nematoides funcionam como excelentes bioindicadores tanto para avaliar a qualidade do solo e como também para avaliar alterações ambientais, porque possuem ampla distribuição geográfica, baixa exigência nutricional (Cares, 2006), regulam a ciclagem de nutrientes e não migram facilmente, quando as condições ambientais mudam, por exemplo, para e condições estresses. Além disto, a ampla facilidade de manuseio destes organismos em comparação com os outros organismos desta teia os tornam como os melhores indicadores disponíveis. Muitos nematoides podem viver em associação com alguns invertebrados, por isto, eles podem ser utilizados como controladores populacional de insetos e de pragas agrícolas. Estão surgindo grande demanda para pesquisa para estes organismos e para os produtos comerciais que poderão ser produzidos a partir deles. No entanto, apesar dos benefícios de analisar os solos através dos nematoides eles são subavaliados por conta da dificuldade de analisar o grupo nos laboratórios de rotina, ficando as análises restritas aos laboratórios de pesquisa.

3 MATERIAL E MÉTODOS



- 1) Avaliação *in vitro*. Coleta de solo de café convencional e horta orgânica: as coletas foram nas profundidades de 0 a 10 cm. Após a coleta, foram levados ao laboratório onde foram submetidos às seguintes análises:
 - a) Avaliar nematoides pelo método de flotação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins, 1964);
 - b) Avaliar nematoides pelo método alternativo do Funil de Baermann (1917);
 - c) Avaliar nematoides pelo método em solução de sacarose, sem centrífuga;
 - d) Identificação de nematoides patogênicos e não patogênicos.

Para o método de Jenkins, misturou-se bem o solo, retirando-se uma amostra de 100 cm³, a qual foi transferida para um recipiente de 2000 a 3000 mL. Em seguida, foi acrescentado aproximadamente 500 mL de água, homogeneizando a mistura para destorroar o solo completamente. Após essa etapa, foi adicionado 1000 mL de água e aguardou-se por 15 segundos para a sedimentação das partículas de argila. O sobrenadante foi, então, tamizado em peneira número 10 (com abertura de 2,00 mm) posicionada sobre um recipiente de 2000 a 3000 mL. Posteriormente, a suspensão obtida foi novamente tamizada, desta vez utilizando uma peneira número 400 (com abertura de 0,037 mm) e jatos fracos de água para concentrar o conteúdo em um dos lados da peneira. Após este processo, o sobrenadante foi recolhido em um béquer de 100 mL com uma piseta.

Em seguida, na fase de centrifugação, a suspensão foi transferida para tubos de centrífuga de 100 mL, e as massas foram equilibradas com água até um volume máximo de 80 mL. A centrifugação foi realizada a uma rotação de 1800 rpm por um período mínimo de 4 minutos. Ao término, os tubos foram cuidadosamente retirados, e o sobrenadante foi descartado.

As bordas dos tubos foram limpas para remoção de impurezas, e uma solução de sacarose (80 mL) foi acrescentada. Agitou-se a mistura com um bastão de vidro, limpando o bastão ao mudar de amostra. Após equilibrar novamente as massas com a solução de sacarose, a suspensão foi centrifugada por mais 1 minuto. O sobrenadante de cada tubo foi transferido para uma peneira número 400, escorrendo-se água sobre a peneira para remover o excesso de sacarose. O conteúdo da peneira foi então recolhido em um béquer de 100 mL com uma piseta, transferido para uma lâmina, levando-se ao microscópio óptico para a identificação dos nematoides.



Para o método alternativo do Funil de Baermann (1917), foi posicionado um funil em um suporte (Figura 1) e posteriormente enchido com água até chegar a cerca de 1 cm abaixo do aro, fechando com uma presilha o ponta do tubo de borracha, certificando que não houve vazamentos. Então foi colocada uma alíquota de 50 cm³ da amostra no funil, de modo que fique totalmente submersa pela água. Após 12 horas, foi tirada uma amostra com a pisseta e levada ao microscópio.

No método alternativo, primeiro, misturou-se bem o solo, retirando-se uma amostra de 100 cm³, a qual foi transferida para um recipiente de 2000 a 3000 mL. Em seguida, foi acrescentado aproximadamente 500 mL de água, homogeneizando a mistura para destorroar o solo completamente. Após essa etapa, foi adicionado 1000 mL de água e aguardou-se por 15 segundos para a sedimentação das partículas de argila. O sobrenadante foi, então, tamizado em peneira número 10 (com abertura de 2,00 mm) posicionada sobre um recipiente de 2000 a 3000 mL. Posteriormente, a suspensão obtida foi novamente tamizada, desta vez utilizando uma peneira número 400 (com abertura de 0,037 mm) e jatos fracos de água para concentrar o conteúdo em um dos lados da peneira. Após este processo, o sobrenadante foi recolhido em um béquer de 100 mL com uma pisseta e deixado por 12 horas para decantação. Após as 12 horas, o sobrenadante foi cuidadosamente retirado e acrescentado a mesma quantidade retirada com solução de sacarose e deixado por mais 12 horas. Após esse período, foi tirado uma alíquota com pisseta, mais próximo ao material decantado e levado ao microscópio.



Figura 1 – Método de Baermann (1917)
Fonte: SBM (2019)

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

O método de Jenkins (1964), se apresentou eficaz para extração de nematoides (Figuras 2 e 3).



Figura 2 – Nematóide em microscópio
Fonte: Autoras



Figura 3 – Nematode em microscópio
Fonte: Autoras

O método de Baermann (1917), também se apresentou eficaz para extração de nematoides (Figuras 4, 5, 6 e 7). Sendo uma metodologia mais simples que a de Jenkins, devido ao uso de materiais mais simples, sendo esses mais acessíveis.



Figura 4 – Nematóide em microscópio
Fonte: Autoras



Figura 5 – Nematóide em microscópio
Fonte: Autoras



Figura 6 – Nematode em microscópio
Fonte: Autoras

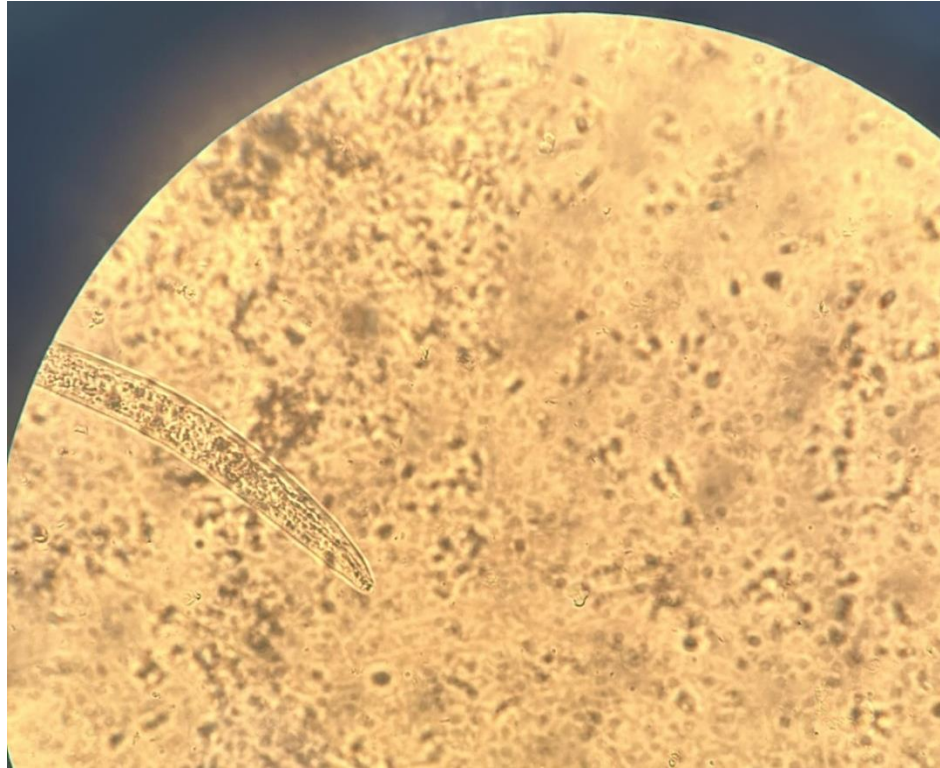


Figura 7 – Nematóide em microscópio
Fonte: Autoras

Ao testar os métodos de Jenkins (1964) e Baermann (1917), ocorreu o teste de um método alternativo que se revelou eficaz e que não existe em publicações. O método se baseia no uso de solução de sacarose na amostra que fica em decantação por 24 horas, sem centrífuga. Este método se mostrou eficiente na extração de nematóides (Figuras 8, 9, 10, 11).



Figura 8 – Nematode em microscópio
Fonte: Autoras



Figura 9 – Nematoide em microscópio
Fonte: Autoras



Figura 10 – Nematóide em microscópio
Fonte: Autoras

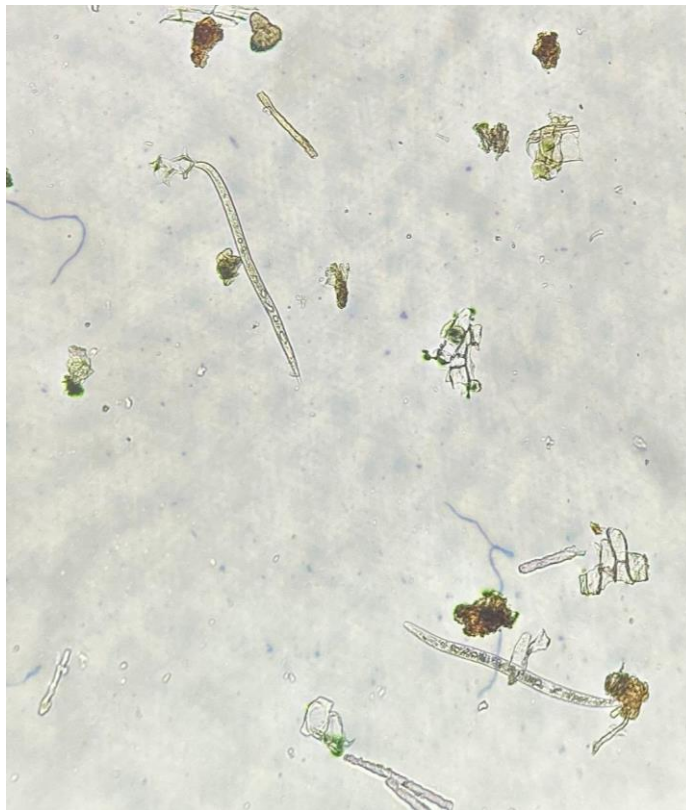


Figura 11 – Nematóide em microscópio
Fonte: Autoras

A etapa de extração a partir de metodologias simples foi alcançada. O objetivo de extração a partir das metodologias de Jenkins (1964), Baermann (1917) e a alternativa, foi atingido e se apresentou eficaz para a extração de nematoides. Destas metodologias, a mais simples foi o método de Baermann (1917) e a alternativa, pois demandaram menos equipamentos de alto custo.

Diante a conclusão da primeira etapa deste estudo, algumas metodologias já estão sendo testadas para a identificação de nematoides patogênicos e não patogênicos.



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo de extração de nematoides a partir das metodologias de Jenkins (1964), Baermann (1917) e a alternativa se apresentaram eficazes para a extração de nematoides.

A identificação de patogênicos e não patogênicos está atualmente em estudo.



ANALYSIS OF PATHOGENIC AND NON-PATHOGENIC NEMATODES AS INDICATORS OF SOIL QUALITY

ABSTRACT

Agribusiness projections surpassed 177.1 billion for 2023, driven by ongoing research and new technologies. However, this outstanding performance has not been matched by advancements in technologies to evaluate soil quality indices, especially in systems where microorganisms are employed to enhance soil fertility. This gap limits the widespread adoption of these methods in the implementation of fertility management and monitoring practices. In response to this need, the objective of this study was to establish a simple and effective protocol for soil nematodes, given their importance in soil nutrient cycling and their strong potential as indicators of soil quality. The study demonstrated efficiency in nematode extraction across the three methods tested.

Keywords: Nematode Extraction, Jenkins, Baermann, Soil Health.



REFERÊNCIAS

BREVIK, E. C.; CERDÀ, A.; MATAIX-SOLERA, J.; PEREG, L.; QUINTON, J. N.; SIX, J.; VAN OOST, K. **The interdisciplinary nature of SOIL**. v. 1, n. 1, p. 117-129, 2015.

CARES, J. E. **Nematóides como indicadores ambientais de solo**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 26., 2006, Campos dos Goytacazes, RJ. Anais... Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2006

Sociedade Brasileira de Microbiologia (SBM) **Micro-organismos funcionam como indicadores da qualidade dos solos**. Disponível em: < <https://sbmicrobiologia.org.br> > Acesso em: 19.mar.2024

Fundação João Pinheiro - FJP. 2019. Disponível em: [FJP.mg.gov.br](http://fjp.mg.gov.br) Acesso em: 21.mar.2024