



**JOÃO PEDRO ELIAS GONDIM**

**YELLOW MEALWORM WASTE AMENDMENT IN THE  
CONTROL OF FUSARIUM WILT AND ROOT-KNOT  
NEMATODE IN TOMATO**

**LAVRAS – MG  
2023**

**JOÃO PEDRO ELIAS GONDIM**

**YELLOW MEALWORM WASTE AMENDMENT IN THE CONTROL OF  
FUSARIUM WILT AND ROOT-KNOT NEMATODE IN TOMATO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Wagner Bettiol  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Gondim, João Pedro Elias.

Yellow mealworm waste amendment in the control of Fusarium  
wilt and root-knot nematode in tomato / João Pedro Elias Gondim. -  
2023.

106 p. : il.

Orientador(a): Wagner Bettiol.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. *Fusarium oxysporum* f sp *lycopersici* raça 3. 2. *Meloidogyne*  
*incognita* raça 1. 3. Supressividade. I. Bettiol, Wagner. II. Título.

**JOÃO PEDRO ELIAS GONDIM**

**YELLOW MEALWORM WASTE AMENDMENT IN THE CONTROL OF  
FUSARIUM WILT AND ROOT-KNOT NEMATODE IN TOMATO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 28 de agosto de 2023.

Dr. Cristiano Alberto de Andrade (EMBRAPA MEIO AMBIENTE)  
Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros (UFLA)  
Dr. Nadson de Carvalho Pontes (IF GOIANO – CAMPUS MORRINHOS)  
Dr. Rodrigo Vieira da Silva (IF GOIANO – CAMPUS MORRINHOS)

Prof. Dr. Wagner Bettiol  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2023**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, soberano sobre tudo e todos, autor da minha fé, pela sua boa, perfeita e agradável vontade sobre a minha vida, por me dar saúde, força e determinação para superar as dificuldades encontradas do dia a dia.

Aos meus pais, João Elias Alves e Alessandra de Oliveira Gondim Elias Alves, pelo amor, incentivo e apoio incondicional, sempre orientando meus passos para o futuro, acreditando no meu potencial, confiando e se orgulhando de minhas conquistas.

À minha irmã Larissa Elias Gondim, que sempre esteve ao meu lado, acompanhando-me em cada etapa alcançada da vida acadêmica.

À minha avó Gercina Elias de Souza (*in memoriam*), por ser uma segunda mãe para mim, pelo amor, incentivo e exemplo de força e saúde com quase um século de vida.

À minha esposa Amanda Marcussi Costa Gondim, pelo amor, carinho, cuidado e incentivo, por ser compreensiva e paciente durante toda esta etapa da minha vida acadêmica.

Aos amigos de pós-graduação, Carla Ribeiro, Davi Duarte, Jéssica Rembinski, Karoliny de Almeida, Nayane Souza, Tarcísio Cartaxo, Valdeir Nunes, Vinícius Zuppa, Viviane Bartelega e Yohanna Medeiros pela amizade, convivência e pelos momentos compartilhados durante a jornada.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA, seu corpo docente, direção e administração, pela oportunidade de conclusão de um curso de pós-graduação de qualidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, em nome da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Antônia dos Reis Figueira, também em especial à secretária Ariane de Souza Alvarenga pela prestatividade em atender as solicitações acadêmicas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de formação de doutorado, fundamental para a realização desta pesquisa.

Às empresas Kaissara Insetos Biofábrica (Além Paraíba-MG) e Agrin Criação e Comércio de Insetos (Avaré-SP), pela prestatividade e doação do volume de resíduo utilizado nesta pesquisa.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira - Embrapa Meio Ambiente, seu corpo técnico, direção e administração, pela oportunidade de estágio durante o curso de pós-graduação.

À equipe do Laboratório de Microbiologia Ambiental Raquel Ghini (LMA) da Embrapa Meio Ambiente, pela amizade e convivência durante o meu período de estágio.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos e ao Laboratório de Fitopatologia (LAFIP), coordenado pelo Prof. Dr. Nadson de Carvalho Pontes, pela oportunidade de

desenvolvimento dos ensaios da tese, novos conhecimentos, novas amizades, em especial aos que apoiaram e auxiliaram na condução desta pesquisa, Raphael Rosa e Thayssa de Oliveira.

Ao Prof. Dr. Nadson de Carvalho Pontes, pela oportunidade de desenvolvimento do projeto de pesquisa durante meu aprendizado e estadia em seu laboratório, pela amizade, confiança, paciência e coorientação transmitida para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wagner Bettiol, pelo acolhimento, pelo sábio conhecimento transmitido e ensino sobre o controle biológico de doenças de plantas, pela amizade, confiança, paciência e orientação que, com sabedoria, soube dirigir meus passos e pensamentos para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Muito obrigado!

## RESUMO GERAL

Os fungos causadores de murchas vasculares (*Fusarium oxysporum*) e os fitonematoides (*Meloidogyne* spp.) estão entre os patógenos de importância à agricultura brasileira e mundial, impactando a produtividade das culturas agrícolas de importância econômica ou de subsistência. A incorporação de resíduos orgânicos ao solo apresenta vários efeitos benéficos. Podem atuar sobre patógenos por meio da liberação de compostos tóxicos produzidos durante a decomposição, e/ou pelo estímulo de microrganismos antagonistas do solo e indução de resistência sistêmica nas plantas. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 (*Fol* 3) e *Meloidogyne incognita* raça 1. Avaliou-se a fitotoxicidade do resíduo na produção de mudas de tomateiro e seu efeito na promoção de crescimento. O efeito do extrato aquoso foi avaliado sobre o crescimento micelial e a germinação de microconídios de *Fol* 3, e sobre a eclosão, mobilidade e mortalidade de J2 de *M. incognita*. Avaliou-se o efeito de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre o crescimento micelial de *Fol* 3, e sobre a eclosão, mobilidade e mortalidade de J2 de *M. incognita*. A supressividade do resíduo foi avaliada sobre *Fol* 3 e sobre *M. incognita* em tomateiro. Não houve toxicidade às plantas quando se incubou o resíduo ao solo, e o peso foi proporcional às concentrações do resíduo. A menor concentração do extrato aquoso reduziu a germinação de microconídios de *Fol* 3. O crescimento micelial do fungo foi incrementado com as concentrações do extrato. A mobilidade de J2 de *M. incognita* foi reduzida com a menor concentração do extrato. Também apresentou eficiência sobre a mortalidade de J2 e reduziu sua eclosão. Sobre os compostos voláteis emitidos pelo resíduo, a menor concentração reduziu o crescimento micelial de *Fol* 3. Também reduziu a mobilidade, apresentou efeito nematocida e afetou a eclosão de J2. Todas as concentrações do resíduo reduziram a severidade externa da murcha-de-Fusarium no tomateiro, representada pela AACPD. O resíduo incrementou a fotossíntese, a eficiência do uso da água e a biomassa aérea e radicular. Todas as concentrações do resíduo reduziram a população de J2 no solo. Houve redução do número de galhas e de ovos + J2 no sistema radicular do tomateiro. Observou-se incremento de biomassa aérea e radicular com as concentrações do resíduo, com redução dos danos fisiológicos. A produtividade do tomateiro foi incrementada com as concentrações do resíduo. Este é o primeiro estudo relacionando o resíduo da larva de *T. molitor* e seu efeito supressivo a fitopatógenos, *Fol* 3 e *M. incognita*. A incubação do resíduo ao solo disponibiliza maior quantidade de nutrientes às plantas, promovendo seu crescimento sem ocasionar fitotoxidez. O resíduo contém uma microbiota, que pode desempenhar vários papéis ecológicos às plantas, e a quitina, importante polímero para a agricultura. Oligômeros de quitina e outros compostos tóxicos, voláteis ou não, estão envolvidos na redução da mobilidade, aumento da mortalidade e redução da eclosão de J2 de *M. incognita*, além da redução do crescimento micelial e da germinação de microconídios de *Fol* 3.

**Palavras-chave:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3. *Meloidogyne incognita* raça 1. Promoção de crescimento de plantas. Supressividade.

## ABSTRACT

Fungi that cause vascular wilt (*Fusarium oxysporum*) and the phytonematodes (*Meloidogyne* spp.) they are among the pathogens of importance to Brazil and global agriculture, impacting the productivity of most agricultural crops of economic or subsistence importance. The incorporation of organic waste amendments into the soil has several beneficial effects. They can act against pathogens through the release of toxic compounds produced during decomposition, and/or by stimulating of antagonistic soil microorganisms and inducing systemic resistance in plants. Thus, the present study aimed to evaluate the efficiency of yellow mealworm waste amendment (*Tenebrio molitor*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 (*Fol 3*) and *Meloidogyne incognita* race 1. The phytotoxicity of the waste was evaluated in the production of tomato seedlings and its effect on plant growth promoting. The effect of the aqueous extract was evaluated on mycelial growth and microconidia germination of *Fol 3*, and on the hatching, mobility and mortality of J2 of *M. incognita*. The effect of volatile compounds emitted by the waste on the mycelial growth of *Fol 3*, and on the hatching, mobility and mortality of J2 of *M. incognita* was evaluated. The suppressiveness of the waste was evaluated against *Fol 3* and *M. incognita* in tomato plants. There was no toxicity to plants when the waste was incubated into the soil, and the weight was proportional to the waste concentrations. The lowest concentration of the aqueous extract reduced the germination of *Fol 3* microconidia. The mycelial growth of the fungus was increased with extract concentrations. The J2 mobility of *M. incognita* was reduced with the lowest concentration of the extract. It also showed efficiency against J2 mortality and reduced its hatching. Regarding the volatile compounds emitted by the waste, the lower concentration reduced the *Fol 3* mycelial growth. It also reduced mobility, had a nematicidal effect and affected the hatching of J2. All concentrations of the waste reduced the external severity of Fusarium wilt in tomato, represented by the AUDPC. There was an increase in photosynthesis, water use efficiency, and aerial and root system biomass. All waste concentrations reduced the J2 population in the soil. There was a reduction in the number of galls and eggs + J2 in the tomato root system. An increase in aerial and root system biomass was observed with concentrations of waste, with a reduction in physiological damage. Tomato productivity increased with waste concentrations. This is the first study relating yellow mealworm waste and its suppressive effect against pathogens, *Fol 3* and *M. incognita*. The waste incubation into the soil provides a greater quantity of nutrients to plants, promoting their growth without causing phytotoxicity. The waste contains a microbiota, that can play several ecological roles for plant, and chitin, an important polymer in agriculture. Chitin oligomers and other toxic compounds, volatile or not, are involved in reducing mobility, increasing mortality and reducing J2 hatching of *M. incognita*, in addition to reducing mycelial growth and microconidia germination of *Fol 3*.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3. *Meloidogyne incognita* race 1. Plant growth promoting. Suppressiveness.



## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	11
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
2.1 Larva-da-farinha – <i>Tenebrio molitor</i> .....	12
2.2 Nematoides-de-galhas-radiculares – <i>Meloidogyne spp.</i> .....	14
2.3 Murcha-de-Fusarium do tomateiro – <i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> .....	15
2.4 Solos supressivos a patógenos habitantes de solo .....	18
2.5 Solos supressivos mediados pela matéria orgânica .....	19
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	21
<b>SEGUNDA PARTE</b> .....	26
<b>ARTIGO 1 – Yellow mealworm waste amendment (<i>Tenebrio molitor</i>): phytotoxicity and its effect on tomato growth promotion</b> .....	26
<b>ABSTRACT</b> .....	26
<b>1 INTRODUCTION</b> .....	26
<b>2 MATERIAL AND METHODS</b> .....	28
2.1 Obtaining yellow mealworm waste ( <i>Tenebrio molitor</i> ).....	28
2.2 Evaluation of the phytotoxicity of yellow mealworm waste amendment ( <i>Tenebrio molitor</i> ) and its effect in tomato growth promotion ( <i>Solanum lycopersicum L.</i> ).....	28
2.3 Data analysis .....	30
<b>3 RESULTS</b> .....	30
<b>4 DISCUSSION</b> .....	38
<b>5 CONCLUSIONS</b> .....	40
<b>REFERENCES</b> .....	40
<b>TERCEIRA PARTE</b> .....	43
<b>ARTIGO 2 – Resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> no controle da murcha-de-Fusarium e de <i>Meloidogyne incognita</i> em tomateiro</b> .....	43
<b>RESUMO</b> .....	43

ABSTRACT .....	44
1 INTRODUÇÃO .....	44
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	46
2.1 Obtenção do extrato aquoso do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> .....	46
2.2 Obtenção e multiplicação do inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3 .....	46
2.3 Obtenção e multiplicação do inóculo de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 1.....	47
2.4 Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre o crescimento micelial e a germinação de microconídios de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3 .....	48
2.5 Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 1 .....	49
2.6 Efeito <i>in vitro</i> de compostos voláteis do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre o crescimento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3.....	50
2.7 Efeito <i>in vitro</i> de compostos voláteis do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 1 .....	50
2.8 Supressividade do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3 em tomateiro ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) em condições controladas .....	52
2.9 Supressividade do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre <i>Meloidogyne incognita</i> raça 1 em tomateiro ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) em condições de campo .....	54
2.10 Análise estatística.....	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	59
3.1 Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre o crescimento micelial e a germinação de microconídios de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3 .....	59

3.2 Efeito <i>in vitro</i> do extrato aquoso do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 1 .....	61
3.3 Efeito <i>in vitro</i> de compostos voláteis do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre o crescimento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3.....	65
3.4 Efeito <i>in vitro</i> de compostos voláteis do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>Meloidogyne incognita</i> raça 1 .....	67
3.5 Supressividade do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raça 3 em tomateiro ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) em condições controladas .....	70
3.6 Supressividade do resíduo da larva de <i>Tenebrio molitor</i> sobre <i>Meloidogyne incognita</i> raça 1 em tomateiro ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) em condições de campo .....	78
4 DISCUSSÃO .....	90
5 CONCLUSÃO.....	94
REFERÊNCIAS .....	94
ANEXOS .....	99

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O agronegócio do Brasil constitui um dos pilares do produto interno bruto (PIB) do país. No território brasileiro, considerando a diversidade de clima e de solo, é possível o cultivo de um vasto número de espécies de plantas, sejam perenes, anuais ou temporárias, com variação nos sistemas de produção. Todavia, a área agrícola caracteriza-se pelos altos riscos enfrentados, principalmente em função de problemas fitossanitários, potencializados pela maior sensibilidade de algumas culturas às condições climáticas adversas (BOLFE et al., 2018).

Entre os principais problemas envolvendo a sanidade das culturas, podem ser citados os de natureza biótica, capazes de desencadear diversas doenças. Os fungos causadores de murchas vasculares, principalmente espécies do complexo *Fusarium oxysporum* e os fitonematoides causadores de galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.), estão entre os patógenos que causam os maiores danos às culturas agrícolas de importância econômica ou de subsistência em todo o mundo. Esses patógenos podem inviabilizar o cultivo, em alguns casos, levando ao abandono da atividade em razão da alta infestação da área de plantio (LAZAROVA et al., 2021; SRINIVAS et al., 2019).

Medidas de controle podem ser adotadas para diminuir as populações de *F. oxysporum* e de *Meloidogyne* spp. nas áreas de cultivo, a exemplo do uso de variedades resistentes, da rotação de culturas, do cultivo de plantas antagonistas, do controle biológico, do controle químico, entre outros. Entretanto, na agricultura moderna a associação de várias medidas de controle é crucial para o sucesso no manejo sustentável de fitopatógenos (AMORIM et al., 2018).

A incorporação de resíduos orgânicos no solo apresenta vários efeitos benéficos em longo prazo. Dentre esses efeitos incluem: sequestro de carbono, incremento da população microbiana, capacidade de retenção de água, redução da densidade do solo, maior oferta de nutrientes, maior quantidade de nitrogênio orgânico e supressão de populações de fitopatógenos (URRA et al., 2019). Além disso, os resíduos orgânicos podem atuar sobre fitopatógenos diretamente por meio da liberação de compostos tóxicos produzidos durante a decomposição, e/ou indiretamente pelo estímulo de populações de microrganismos antagonistas do solo e indução de resistência sistêmica nas plantas. No entanto, o tipo de resíduo, a quantidade incorporada ao solo, o grau de decomposição, as características do substrato/solo e o patossistema envolvidos podem afetar o nível de supressão do solo aos fitopatógenos (BONANOMI et al., 2007; BONANOMI et al., 2020; HECK, et al., 2019).

Nas últimas décadas vêm sendo produzidos insetos tanto para uso em ração animal, como para alimentação humana, como fonte de proteínas. Comparada a outras fontes, a vantagem da criação de insetos é que exige menos espaço e menos água. Além disso, os insetos possuem maior taxa de conversão alimentar e ciclo de vida rápido, não demandando treinamento aprofundado para a criação (MORUZZO et al., 2021).

Na produção de insetos comerciais, os resíduos gerados da sua digestão podem conter altas quantidades de nutrientes em forma acessível para as plantas, como os de abelhas, os de besouros, os de formigas, os de gafanhotos e os de mariposas, sugerindo-os como possíveis fertilizantes orgânicos. Além disso, no intestino dos insetos é possível encontrar microrganismos capazes de atuarem na promoção de crescimento de plantas (POVEDA et al., 2019).

Um crescente esforço da comunidade científica tem sido empreendido na busca por medidas de controle de doenças de plantas que possam atender as demandas dos diversos setores agrícolas e os anseios da sociedade por uma agricultura sustentável. Novas alternativas no controle de fitopatógenos devem explorar fontes naturais que ofereçam os mesmos ou melhores resultados frente aos convencionais, e que não apresentem efeitos colaterais ao homem e ao meio ambiente. Assim, o objetivo da presente tese foi avaliar a eficiência do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 e *Meloidogyne incognita* raça 1.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Larva-da-farinha – *Tenebrio molitor***

*Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) é um inseto que possui ampla distribuição em todo o mundo e com hábitos noturnos. É conhecido por ser uma praga de grãos armazenados, farinha e farelo, embora seja capaz de consumir papel, papelão, madeira macia e carne seca, entre outros. O inseto reproduz facilmente e as larvas agregam alto valor proteico. Essa rápida produção é devido à menor energia investida pelo inseto para manter uma temperatura corporal constante. Assim, a energia é direcionada ao seu crescimento e desenvolvimento, exigindo menor quantidade de alimento para ganho de massa (MORUZZO et al., 2021).

No ciclo de vida de *T. molitor*, os insetos adultos depositam seus ovos, de onde larvas minúsculas eclodem, iniciando o estágio larval. Após, as larvas se transformam em pupas antes de se tornarem adultos. Todo o ciclo ocorre no mesmo ecossistema. No entanto, as condições

ambientais determinam a rapidez com que os estágios de desenvolvimento acontecem (SELALEDI et al., 2020).

A fêmea adulta de *T. molitor* deposita cerca de 400 a 500 ovos em um substrato no fundo do recipiente onde são criados. A ovoposição pode-se iniciar em apenas três dias após o adulto emergir da pupa. Durante o período de acasalamento, as fêmeas produzem feromônio 4-metil-1-nonanol para atrair os machos (TANAKA et al. 1986). No entanto, os machos também podem liberar odores e atrair as fêmeas (PÖLKKI et al., 2012). O besouro adulto emerge apresentando coloração branca, que gradualmente vai se tornando escura. A duração da vida adulta varia de 16 a 173 dias. Esse período pode ser encurtado quando os besouros são expostos à temperatura de 30 °C, em comparação às de 20 °C ou 25 °C (SELALEDI et al., 2020).

O período de incubação dos ovos de *T. molitor* varia em função da temperatura, geralmente, entre quatro dias a 26-30 °C e 34 dias a 15 °C. Os ovos apresentam taxa de eclosão acima de 70% entre temperaturas de 17,5 e 27,5 °C. O peso do ovo e a duração do estágio do ovo não são afetados pela idade dos pais. No entanto, a taxa de eclosão dos ovos é afetada (KIM et al., 2015).

As minúsculas larvas de *T. molitor* emergem dos ovos e o estágio larval se inicia. Nesse estágio, a larva passa por estágios de instar, que são atingidos após a muda ou ecdise, em que é realizada a troca da cutícula. Ao todo, podem ocorrer 17 instares antes da larva se tornar uma pupa. A cada instar sucessivo, o comprimento do corpo da larva aumenta gradualmente. O comprimento da larva pode atingir entre 12 e 32 mm. As larvas são brancas com o 1º instar e gradualmente tornam-se marrons após o 2º instar. No final do estágio larval, inicia-se um curto período de inatividade das larvas antes de se transformarem em pupas. A fase de pupa varia entre 6 e 20 dias antes de se tornar adulto (HONG et al., 2020).

Na criação de *T. molitor*, a eficiência de conversão alimentar, o desenvolvimento e o crescimento das larvas são afetados pela variabilidade da dieta. As larvas possuem maior peso quando são criadas em uma dieta contendo farelo de trigo. A taxa de crescimento também é influenciada pela umidade relativa, com ótima a 70%. A adição de umidade à alimentação também pode acelerar o crescimento das larvas e reduzir a taxa de mortalidade do inseto (POVEDA et al., 2019).

As larvas de *T. molitor* são utilizadas para alimentação animal e humana em alguns países. Em escala comercial, a produção é destinada para a alimentação de animais, como répteis, aves e peixes. Para consumo humano, as larvas representam um prato popular para a população da China. A criação de *T. molitor* é de fácil manejo e custo relativamente baixo, com impacto mínimo ao meio ambiente. Esse impacto mínimo é devido à reduzida produção de

gases de efeito estufa e por requerer menos espaço em comparação com outras fontes de proteína (MORUZZO et al., 2021).

## **2.2 Nematoides-de-galhas-radiculares – *Meloidogyne* spp.**

O reconhecimento da importância do papel dos fitonematoides como fator limitante à produção agrícola teve início no século passado, em razão, principalmente, da expansão das áreas de cultivo e do aumento da demanda por alimentos, impulsionados após a Segunda Guerra Mundial (LOPES e FERRAZ, 2016).

Uma das poucas estimativas de perdas em nível mundial disponíveis foi publicada no final da década de 1980. Considerando os valores da época e projeções monetárias recentes, os prejuízos anuais são de US\$ 78 - 125 bilhões, com perdas estimadas em 12,3% da produção agrícola em todo o mundo (RAVICHANDRA, 2014; SASSER e FRECKMAN, 1987).

São raros os trabalhos estimando as perdas causadas pelos fitonematoides na agricultura brasileira. Machado (2014) ressalta os vários problemas nematológicos vivenciados no Brasil, relacionando-os ao sistema agrícola amplamente adotado no país, com intenso uso da terra e uma sucessão de culturas suscetíveis aos fitonematoides. Frequentemente, surgem espécies emergentes, associadas a altas perdas, que podem chegar a dados alarmantes de R\$ 35 bilhões/ano (MACHADO, 2015).

O gênero *Meloidogyne*, chamado nematoides-de-galhas-radiculares é o grupo de fitonematoides mais prejudicial e economicamente importante para a agricultura no Brasil e no mundo, pois infecta praticamente todos os tipos de culturas agrícolas. As espécies de *Meloidogyne* apresentam alta variabilidade genética pelo número de espécies identificadas, diversidade citogenética, modo de reprodução (anfimixia e partenogênese) e pela ampla gama de hospedeiros (CASTAGNONE-SERENO et al., 2013).

A espécie *M. incognita* é uma das principais do gênero, e é altamente virulenta, polífaga e de ampla distribuição geográfica. No Brasil, é a espécie de maior ocorrência do gênero em áreas de plantio em levantamentos populacionais. Podem ser encontradas quatro raças da espécie, que se diferenciam apenas pela preferência alimentar de hospedeiro, e todas podem infectar o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) (SIKANDAR et al., 2020).

A forma de vida móvel no solo capaz de infectar as raízes é o juvenil de segundo estágio (J2) ou estágio infectivo. Ao penetrarem nas raízes, os J2 movimentam-se para as regiões próximas aos vasos condutores, induzem a formação de células especializadas de alimentação e se tornam sedentários. Ali, passam por sucessivas ecdises, que é a troca da cutícula externa (2ª, 3ª e 4ª), até chegarem à fase adulta. Também ocorre o alargamento progressivo do corpo do

juvenil durante as ecdises. Ao atingirem a fase adulta, as fêmeas permanecem em seu sítio de alimentação, assumindo um formato piriforme, e os machos reassumem o formato filiforme, saindo das raízes em direção ao solo (FERRAZ, 2018; SIKANDAR et al., 2023).

O engrossamento das raízes denominado “galha” é devido à hiperplasia celular, uma multiplicação desordenada de células adjacentes ao sítio de alimentação do fitonematoide. Contudo, esse sintoma não é essencial para o parasitismo de espécies de *Meloidogyne* em suas plantas hospedeiras. Posteriormente, a fêmea deposita seus ovos em uma matriz gelatinosa, que pode ser interna ou externa. São formadas em meio ao parênquima cortical ou sobre a superfície das raízes, que contêm em média de 500 a 1000 ovos protegidos pela camada gelatinosa que evita a dessecação e protege contra o ataque de microrganismos. Ainda dentro do ovo ocorre a formação do juvenil de primeiro estágio (J1), que ali sofre a 1ª ecdise, originando o J2. Por fim, o J2 abandona o ovo e passa a migrar no solo à procura da raiz de um hospedeiro favorável. O ciclo de vida varia de 21 a 45 dias, dependendo das condições do ambiente, da planta hospedeira e da espécie de *Meloidogyne* (FERRAZ, 2018; VILELA et al., 2019).

O ovo é um estágio de *Meloidogyne* que pode entrar em dormência em condições desfavoráveis, como solo seco e ausência de hospedeiro. Entretanto, esse fitonematoide tem uma ampla gama de plantas hospedeiras, podendo sobreviver em plantas invasoras durante a entressafra. De modo geral, os sintomas causados por esses patógenos são observados no campo em áreas localizadas, de maior ou menor extensão, denominadas manchas ou “reboleiras”. Nessas áreas concentram-se plantas com desenvolvimento reduzido, murcha nas horas mais quentes do dia, declínio, queda de folhas, sintomas de deficiência nutricional e até mesmo morte prematura. As formas de dispersão são por meio da movimentação do solo por máquinas, água e implementos agrícolas contaminados, além do próprio homem, animais e material de plantio infectado (SIKANDAR et al., 2020; SIKANDAR et al., 2023).

Dentro do manejo integrado de fitonematoídeos, a prevenção é a medida de controle mais eficiente, pois, uma vez estabelecidos na área de plantio, sua erradicação é quase impossível. Entre as medidas de controle de fitonematoídeos mais empregadas nos cultivos agrícolas, podem ser citadas o uso de variedades resistentes, a rotação de culturas, a incorporação de matéria orgânica ao solo, e o controle químico e biológico (FERRAZ, 2018; PINHEIRO, 2017).

### **2.3 Murcha-de-Fusarium do tomateiro – *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici***

A murcha-de-Fusarium, também chamada de fusariose, é uma importante doença que acomete a cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em todo o mundo (BORISADE et al., 2017). A doença é causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), e até os dias



atuais, três raças fisiológicas do fungo foram descritas e identificadas como raças 1, 2 e 3. Essa identificação das raças é de acordo com a variabilidade genética dos isolados do patógeno e sua capacidade de infectar cultivares específicas de tomateiro. As raças 1 e 2 apresentam ampla distribuição mundial, enquanto a raça 3 é geograficamente mais restrita (BIJU et al., 2017; CHITWOOD-BROWN, et al., 2021).

As três raças de *Fol* são de ocorrência no Brasil, sendo a raça 3 relatada por último (REIS et al., 2005). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 (*Fol* 3) é altamente virulento à maioria das cultivares de tomateiro, e está presente em áreas de produção nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. A raça 3 de *Fol* apresenta rápida disseminação e possível introdução em novas áreas de produção por material propagativo contaminado (GONÇALVES et al., 2018).

São escassas as estimativas dos prejuízos econômicos causados por *Fol* na produção brasileira e mundial de tomate. Em tomateiros em condições de murcha e folhas amareladas as perdas podem variar de 60 a 70% da produção de frutos. Entretanto, as perdas de produção podem variar e chegar em até 100%, principalmente em cultivares sensíveis de tomateiro. Fatores como textura arenosa, pH ácido, baixa fertilidade ou desequilíbrio nutricional contribuem para potencializar as perdas de produção (SANTOS JÚNIOR et al., 2009; SINGH et al., 2015).

O fungo caracteriza-se pela formação de três tipos de esporos assexuais. Os macroconídios, hialinos e com 3 a 5 septos, possuem extremidades curvadas e são formados em esporodóquios. Os microconídios, também hialinos e com 1 ou 2 septos, são formados em monofiálides curtas, usualmente, os esporos mais abundantes. Os clamidósporos, estruturas de sobrevivência do patógeno, apresentam formato arredondado e parede espessa. Mesmo na ausência do hospedeiro, essas estruturas podem permanecer viáveis no solo por mais de 10 anos. A morfologia das colônias em batata-dextrose-ágar (BDA) é de rápido crescimento e de coloração pálida a pigmentada, variando de violeta a púrpura escuro ou creme a laranja, com presença de micélio aéreo (LESLIE e SUMMERELL, 2006; SRINIVAS et al., 2019).

O fungo pode penetrar nas raízes diretamente através dos pelos radiculares, ou indiretamente por ferimentos. O patógeno coloniza o sistema vascular das plantas no sentido ascendente, podendo atingir frutos e sementes. A disseminação a longa distância é a mais eficiente e se dá por sementes contaminadas. Entretanto, *Fol* pode disseminar a curtas distâncias por meio de mudas infectadas, restos de cultura, água, torrões de terra, poeira do solo, vento e implementos agrícolas contaminados (INOUE-NAGATA et al., 2016, JOSHI, 2018).

A sobrevivência do fungo está associada aos restos culturais, como saprófita e na forma de clamidósporos, permitindo a sua sobrevivência no solo em longo prazo. Os clamidósporos surgem da modificação (espessamento das paredes) das células hifais ou conidiais e sua indução de formação está relacionada a fatores de estresse, como ausência do hospedeiro e condições ambientais desfavoráveis. Os clamidósporos germinam quando retornam a condições favoráveis, incluindo a presença de exsudatos da raiz do hospedeiro. O desenvolvimento da doença é favorecido em temperaturas de 21-33 °C e ótimo a 28 °C (CHITWOOD-BROWN et al., 2021; McGOVERN, 2015).

Os sintomas causados por *Fol* podem se manifestar no campo em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, porém é mais comum no início do florescimento e frutificação. Nas folhas mais velhas manifesta-se um amarelecimento forte, que progride para as folhas mais novas. Frequentemente, esse sintoma pode inicialmente ocorrer em um lado da planta ou metade da folha. Em sequência, os folíolos amarelos murcham e secam, mas as folhas ficam presas ao caule. O sintoma de melhor identificação da doença pode ser observado através do corte transversal do caule do tomateiro, em que se observa uma coloração marrom intensa na região do xilema (McGOVERN, 2015; SRINIVAS et al., 2019).

A murcha e a morte das plantas são causadas pela combinação de dois fatores. Primeiro, o crescimento e multiplicação do fungo no sistema vascular (incluindo produção de toxinas), causando desorganização celular por meio de suas hifas. Como resposta de defesa da planta hospedeira, são produzidas estruturas de defesa conhecidas como tiloses, que bloqueiam o transporte de água e nutrientes nos vasos do xilema. À medida que as plantas morrem, o fungo cresce em direção aos tecidos circundantes, onde formam clamidósporos que são liberados de volta ao solo (JOSHI, 2018).

No manejo integrado de doenças de plantas, a utilização combinada e integrada de medidas de controle possibilita a elaboração de estratégias mais eficientes na redução da população dos patógenos. A prevenção, muitas vezes ignorada, é a medida de controle mais eficiente, desde a escolha da área de plantio e a aquisição do material propagativo, até aos cuidados com os tratos culturais, a água de irrigação, e o uso de máquinas e implementos agrícolas. As medidas de controle mais comumente empregadas no manejo de *Fol* são o uso de variedades resistentes, a rotação de culturas por 3 a 5 anos com o plantio de gramíneas, o tratamento de sementes e o emprego de compostos orgânicos visando o aumento da microfauna antagonista (CHITWOOD-BROWN et al., 2021; INOUE-NAGATA et al., 2016).

## 2.4 Solos supressivos a patógenos habitantes de solo

O solo constitui-se de um ecossistema complexo e dinâmico, não apenas pelo fornecimento de nutrientes aos organismos vivos (fauna e flora), mas por habitar bilhões de microrganismos. Dentre esses, as algas, as arqueas, as bactérias, os fungos, os nematoides e os protozoários estão entre os principais microrganismos envolvidos nos processos e nas funções ecológicas do solo (GUERRA et al., 2020).

Solos supressivos são solos que têm a capacidade de suprimir o desenvolvimento de patógenos, a densidade e suas atividades, e/ou suprimir a doença reduzindo a sua severidade mesmo com alta densidade de inóculo, até um certo nível de supressão. O oposto, são denominados solos conducentes. Os fatores biológicos são os mais explorados, porém atributos físico-químicos do solo, em que se inclui o nível de pH, o teor de argila, a quantidade de matéria orgânica presente no solo, a maior oferta e disponibilidade de macro e micronutrientes podem contribuir para a supressão direta ou indiretamente pelo impacto na atividade microbiana do solo. Essas particularidades do solo são extensivamente influenciadas pelas diversas práticas de manejo utilizadas nos sistemas agrícolas (JAYARAMAN et al., 2021).

A supressividade de solo pode ser dividida em dois tipos: curto e longo prazo. Entende-se como supressividade a curto prazo aquela que é resultado de alterações nas práticas agrícolas, sejam elas físicas, químicas e/ou biológicas. Já a supressividade a longo prazo é resultado de propriedades estáveis que é observada durante anos. O conceito de supressão a doenças pode ser visualizado com base no triângulo da doença, no qual existem três fatores principais determinantes: planta hospedeira, patógeno virulento e ambiente favorável. O “ambiente” precisa ser manipulado e adaptado especificamente para desenvolver um solo supressivo ao patógeno ou reduzir a severidade da doença, mesmo na presença do patógeno e do hospedeiro. O período de persistência da supressão a longo prazo se estende por anos, mesmo que haja a reintrodução do patógeno no solo. Exceto, quando as propriedades constituintes do solo supressivo forem modificadas, ou quando ocorrer mutação nos patógenos (BETTIOL et al., 2009; HADAR e PAPADOPOULOU, 2012; JAYARAMAN et al., 2021).

Os microrganismos envolvidos na supressividade dos solos atuam pelos mecanismos de ação envolvidos no controle biológico de doenças de plantas. Esses mecanismos se dividem em antibiose, competição, parasitismo, predação e indução de resistência sistêmica do hospedeiro. Entretanto, os microrganismos atuam por mais de um mecanismo de ação sobre os patógenos (BETTIOL et al., 2009).

Dentre os microrganismos envolvidos na supressividade dos solos, as bactérias são conhecidas pela capacidade de produção de metabólitos secundários bioativos capazes de inibir

patógenos habitantes do solo. Além da antibiose, atuam por competição de espaço e recursos no solo com os patógenos, promoção de crescimento de plantas e indução de resistência sistêmica. O gênero *Bacillus* se destaca devido a maior ocorrência nos solos e aos vários produtos comerciais à base da bactéria (SHI et al., 2019).

Os fungos também estão intimamente ligados à supressividade dos solos atuando por vários mecanismos de ação. O gênero *Trichoderma* é o mais estudado devido aos diversos produtos comerciais existentes. Fungos micorrízicos arbusculares são conhecidos por melhorar a nutrição da planta, além da interação com rizobactérias promotoras de crescimento no solo. Também, são capazes de produzir metabólitos secundários, competir por espaço para colonização e induzir resistência sistêmica da planta (GAO et al., 2019).

As propriedades físico-químicas também são fatores que interferem na supressividade dos solos de duas formas: direta (interferência) e indiretamente (favorecimento) na população microbiana. A textura do solo é um fator que contribui para a construção de solos supressivos, pois solos bem drenados interferem na reprodução e sobrevivência de fungos. A supressividade do solo ocorre frequentemente em solos com alto teor nutricional. A restrição de nutrientes no solo predispõe as plantas a maior suscetibilidade a patógenos. Todavia, alto teor de nitrogênio do solo e alta proporção de amônia e nitrato podem favorecer os patógenos. O pH do solo ácido restringe a formação de esporângios e a liberação de zoósporos de fungos, como *Phytophthora* e contribui para a supressividade da sarna-comum da batata (*Streptomyces* spp.). Todavia, pH do solo alcalino restringe a ocorrência de *Fusarium*, pela redução da disponibilidade de nutrientes do solo para o patógeno (GHORBANI et al., 2008; JAMBHULKAR et al., 2015; JAYARAMAN et al., 2021; KOPECKY et al., 2019).

## **2.5 Solos supressivos mediados pela matéria orgânica**

A matéria orgânica do solo (MOS), originária de resíduos vegetais e/ou animais que passam por complexos processos físico-químicos no solo, geralmente está associada às menores incidências de doenças radiculares, de acordo com seu teor no solo. A incorporação de adubos orgânicos ao solo manipula fatores biológicos, além de influenciar nas propriedades físicas e químicas, favorecendo assim vários caminhos para a supressividade do solo. A adição de esterco de animais, resíduos de culturas, turfa, lodo de esgoto, biocarvão, farinha de peixe, carne e ossos, cascas de camarão, conchas de moluscos e emulsão de peixe, entre outros, foram relatados como supressores de patógenos habitantes de solo (BONANOMI et al., 2007; BONANOMI et al., 2020; HECK et al., 2019).

Um composto orgânico bem-preparado contém uma comunidade microbiana com características variadas e peculiares, com mecanismos de ação variados na construção da supressividade. A fim de compreender os mecanismos da supressividade dos compostos orgânicos, comumente utilizam-se tratamentos térmicos, como a esterilização e a pasteurização. Em tais observa-se redução na capacidade supressora do composto, indicando a natureza biológica da supressão (HADAR e PAPADOPOULOU, 2012; JAYARAMAN et al., 2021).

Extratos aquosos oriundos de diversos compostos orgânicos podem atuar na indução de supressividade do solo, pela presença de antibióticos e de sideróforos produzidos pela microbiota. Em bactérias do gênero *Bacillus*, lipopeptídeos como iturina, surfactina e fengicina foram relatados como eficazes no biocontrole de *Sclerotinia* e *Botryosphaeria dothidea*. Fungos, como os do gênero *Trichoderma* podem produzir compostos metabólicos como pirona e viridina que atuam sobre a germinação de esporos de *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Aspergillus* (LUO et al., 2022; VINALE et al., 2016).

A liberação de compostos orgânicos voláteis (COVs) afeta o desenvolvimento dos patógenos, como os compostos glucosinolatos e isotiocianatos oriundos de brássicas que são tóxicos aos fitonematoides. Também, os COVs podem estimular mudanças nas propriedades físicas e químicas do solo que favorecem microrganismos antagonistas. Por exemplo, as brássicas favorecem *Lysobacter* que atua sobre a inibição de *Rhizoctonia solani* no solo (BUI e DESAEGER, 2021; POSTMA et al., 2010; JAYARAMAN et al., 2021).

A competição por espaço e nutrientes entre o agente de biocontrole e o patógeno também afeta a supressividade do solo. A exemplo, o algodoeiro (*Gossypium* sp.) produz ácidos graxos, como o ácido linoléico, que é um estimulante para a germinação do patógeno *Pythium ultimum*. O agente de biocontrole *Enterobacter cloacae* inoculado ao composto de folhas de árvores caducifólias metaboliza os ácidos graxos e impede a germinação de esporos do patógeno (McKELLAR e NELSON, 2003).

O incremento da população microbiana antagonista pode aumentar a supressividade do solo. A quitina extraída de resíduos de animais estimula microrganismos quitinolíticos do solo capazes de hidrolisar hifas fúngicas e de degradar a cutícula de fitonematoides. Também, estimula as comunidades fúngicas e bacterianas em sistema de rotação de culturas, como *Duganella violaceinigra* e *Massilia plicata* correlacionadas com a supressividade a *Verticillium dahliae* e *Pratylenchus* spp. (CRETOIU et al., 2013; ESCUDERO et al., 2016; HADAR e PAPADOPOULOU, 2012).

O aumento da resistência das plantas suprime a incidência de doenças de solo através da indução da resistência sistêmica. Como mediadores da supressão são descritos nutrientes

altamente solúveis, hormônios reguladores de crescimento e ácidos húmicos. As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) são as mais relatadas dentre os microrganismos por promoverem o crescimento da planta pela fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, e liberação de fitohormônios de crescimento e enzimas. A exemplo, a aplicação do chá de composto oriundo da compostagem de resíduos verdes e de poda de jardinagem induziu a defesa em plantas de pimenta (*Capsicum annuum* L.) a *Rhizoctonia solani* e a *Phytophthora capsici*. A mediação se deu pelo conteúdo relevante de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), óxido de potássio ( $\text{K}_2\text{O}$ ), ácidos húmicos e microrganismos no chá de composto. A supressividade às doenças de solo em alguns casos está associada ao aumento das barreiras físicas nas raízes, como lignificação e deposição de calos (GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ et al., 2021; ILLANGUMARAN e SMITH, 2017).

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. 573 p.
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MARIANO, R. R. L.; MICHEREFF, S. J.; MATTOS, L. P. V.; ALVARADO, I. C. M.; PINTO, Z. V. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. cap. 12, p. 187-208.
- BIJU, V. C.; FOKKENS, L.; HOUTERMAN, P. M.; REP, M.; CORNELISSEN, B. J. C. Multiple evolutionary trajectories have led to the emergence of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 4, p. 1-20, 2017.
- BOLFE, L. E.; CAMPOS, S. K.; PENA JÚNIOR, M. A.; CONTINI, E.; RODRIGUES, R. A. R.; SANTANA, C. A. M.; LOPES, D. B.; SILVA, G. T. S.; HENZ, G. P.; COSTA, J. L. S.; VALENTIM, J. F.; TORRES, L. A.; BRUNALE, L.; GOMES, M. P.; GRÜNDLING, R. D. P.; NOGUEIRA, V. G. C. **Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira**. Brasília: Embrapa, 2018. 212 p.
- BONANOMI, G.; ANTIGNANI, V.; PANE, C.; SCALA, F. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. **Journal of Plant Pathology**, v. 89, n. 3, p. 311-324, 2007.
- BONANOMI, G.; ZOTTI, M.; IDBELLA, M.; SILVERIO, N. D.; CARRINO, L.; CESARANO, G.; ASSAEED, A. M.; ABD-ELGAWAD, A.; Decomposition and organic amendments chemistry explain contrasting effects on plant growth promotion and suppression of *Rhizoctonia solani* damping off. **PLOS ONE**, v. 15, n. 4, p. 1-20, 2020.
- BORISADE, O. A., UWAIDEM, Y. I.; SALAMI, A. E. Preliminary report on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (sensu lato) from some tomato producing agroecological areas in southwestern Nigeria and susceptibility of F1-resistant tomato hybrid (F1-lindo) to infection. **Annual Research & Review in Biology**, v. 18, n. 2, p. 1-9, 2017.

BUI, H. X.; DESAEGER, J. A. Volatile compounds as potential bio-fumigants against plant-parasitic nematodes – a mini review. **Journal of Nematology**, v. 53, p. 1-12, 2021.

CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J.; PERFUS-BARBEOCH, L.; ABAD, P. Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: new insights from the genomic era. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, n. 1, p. 203-220, 2013.

CHITWOOD-BROWN, J.; VALLAD, G. E.; LEE, T. G.; HUTTON, S. F. Breeding for resistance to fusarium wilt of tomato: a review. **Genes**, v. 12, n. 11, p. 1-16, 2021.

CRETOIU, M. S.; KORTHALS, G. W.; VISSER, J. H. M.; VAN ELSAS, J. D. Chitin amendment increases soil suppressiveness toward plant pathogens and modulates the actinobacterial and oxalobacteraceal communities in an experimental agricultural field. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 17, p. 5291-5301, 2013.

ESCUADERO, N.; FERREIRA, S. R.; LOPEZ-MOYA, F.; NARANJO-ORTIZ, M. A.; MARIN-ORTIZ, A. I.; THORNTON, C. R.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Chitosan enhances parasitism of *Meloidogyne javanica* eggs by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal Biology**, v. 120, n. 4, p. 572-585, 2016.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides. In: AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018, v. 1, cap. 13, p. 195-211.

GAO, Z.; KARLSSON, I.; GEISEN, S.; KOWALCHUK, G.; JOUSSET, A. Protists: puppet masters of the rhizosphere microbiome. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 2, p. 165-176, 2019.

GHORBANI, R.; WILCOCKSON, S.; KOOCHEKI, A.; LEIFERT, C. Soil management for sustainable crop disease control: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 6, p. 149-162, 2008.

GONÇALVES, A. M.; COSTA, H.; FONSECA, M. E. N.; BOITEUX, C. A.; LOPES, C. A.; REIS, A. Variability, and geographical distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* physiological races and field performance of resistant sources in Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 1207, n. 5, p. 45-50, 2018.

GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, A. I.; SUÁREZ-FERNÁNDEZ, M. B.; PÉREZ-SANCHEZ, R.; GÓMEZ-SÁNCHEZ, M. A.; MORALES-CORTS, M. R. Compost tea induces growth and resistance against *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici* in pepper. **Agronomy**, v. 11, n. 4, p. 1-12, 2021.

GUERRA, C. A.; HEINTZ-BUSCHART, A.; SIKORSKI, J.; CHATZINOTAS, A.; GUERRERO-RAMÍREZ, N.; CESARZ, S.; BEAUMELLE, L.; RILLIG, M. C.; MAESTRE, F. T.; DELGADO-BAQUERIZO, M.; BUSCOT, F.; OVERMANN, J.; PATOINE, G.; PHILLIPS, H. R. P.; WINTER, M.; WUBET, T.; KUSEL, K.; BARDGETT, R. D.; CAMERON, E. K.; COWAN, D.; GREBENC, T.; MARÍN, C.; ORGIAZZI, A.; SINGH, S. K.; EISENHAUER, N. Blind spots in global soil biodiversity and ecosystem function research. **Nature Communications**, v. 11, n. 3870, p. 1-13, 2020.

HADAR, Y.; PAPADOPOULOU, K. K. Suppressive composts: microbial ecology links between abiotic environments and healthy plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 50, n. 50, p. 133-153, 2012.

HECK, D. W.; GHINI, R.; BETTIOL, W. Deciphering the suppressiveness of banana wilt with organic residue. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 47-60, 2019.

HONG, J.; HAN, T.; KIM, Y. Y. Mealworm (*Tenebrio molitor* larvae) as an alternative protein source for monogastric animal: a review. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 1-20, 2020.

ILLANGUMARAN, G.; SMITH, D. L. Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1768, p. 1-14, 2017.

INOUE-NAGATA, A. K.; LOPES, C. A.; REIS, A.; PEREIRA, R. B.; QUEZADO-DUVAL, A. M.; PINHEIRO, J. B.; LIMA, M. F. Doenças do tomateiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; F.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016, v. 2, cap.70, p. 697-731.

JAMBHULKAR, P. P.; SHARMA, M.; LAKSHMAN, D.; SHARMA, P. Natural mechanisms of soil suppressiveness against diseases caused by *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, and *Phytophthora*. In: MEGHVANSI, M. K.; VARMA, A. (Eds.). **Organic amendments and soil suppressiveness in plant disease management**. Switzerland: Springer International Publishing, v. 46, 2015, p. 95-123.

JAYARAMAN, S.; NAOREM, A. K.; LAL, R.; DALAL, R. C.; SINHA, N. K.; PATRA, A. K.; CHAUDHARI, S. K. Disease-suppressive soils – beyond food production: a critical review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 1437-1465, 2021.

JOSHI, R. A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 6, n. 3, p. 112-115, 2018.

KIM, S. Y.; PARK, J. B.; LEE, Y. B.; YOON, H. J.; LEE, K. Y.; KIM, N. J. Growth characteristics of mealworm *Tenebrio molitor*. **Journal of Sericultural and Entomological Science**, v. 53, n. 1, p. 1-5, 2015.

KOPECKY, J.; SAMKORA, Z.; SARIKHANI, E; KYSELKOVÁ, M.; OMELKA, M.; KRISTUFEK, V.; DIVIS, J.; GRUNDMANN, G. G.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; SAGOVA-MARECKOVA, M. Bacterial, archaeal, and micro-eukaryotic communities characterize a disease-suppressive or conducive soil and cultivar resistant or susceptible to common scab. **Scientific Reports**, v. 9, n. 14883, p. 1-14, 2019.

LAZAROVA, S.; COYNE, D.; RODRÍGUEZ, M. G.; PETEIRA, B.; CIANCIO, A. Functional diversity of soil nematodes in relation to the impact of agriculture – a review. **Diversity**, v. 13, n. 2, p. 1-22, 2021.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2006. 388 p.



LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (Eds.). **Diagnose de Fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. cap. 1, p. 1-13.

LUO, L.; ZHAO, C.; WANG, E.; RAZA, A.; YIN, C. *Bacillus amyloliquefaciens* as an excellent agent for biofertilizer and biocontrol in agriculture: an overview for its mechanisms. **Microbiological Research**, v. 259, p. 1-10, 2022.

McGOVERN, R. J. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. **Crop Protection**, v. 73, p. 78-92, 2015.

McKELLAR, M. E.; NELSON, E. B. Compost-induced suppression of *Phythium* damping-off is mediated by fatty-acid-metabolizing seed-colonizing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 1, p. 452-460, 2003.

MACHADO, A. C. Z. **Ataques de nematoides custam R\$ 35 bilhões ao agronegócio brasileiro**. 2015. Disponível em: < <http://www.ragricola.com.br/destaque/ataques-de-nematoides-custam-r-35-bilhoes-ao-agronegocio-brasileiro/>>. Acesso em: 23 jan. 2020.

MACHADO, A. C. Z. Current nematode threats to Brazilian agriculture. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 26-35, 2014.

MORUZZO, R.; RICCIOLI, F.; DIAZ, S. E.; SECCI, C.; POLI, G.; MANCINI, S. Mealworm (*Tenebrio molitor*): potential and challenges to promote circular economy. **Animals**, v. 11, p. 1-16, 2021.

PINHEIRO, J. B. **Nematoides em Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2017. 194 p.

PÖLKKI, M.; KRAMS, I.; KANGASSALO, K.; RANTALA, M. J. Inbreeding affects sexual signaling in males but not females of *Tenebrio molitor*. **Biology Letters**, v. 8, n. 3, p. 423-425, 2012.

POSTMA, J.; SCHEPER, R. W. A.; SCHILDER, M. T. Effect of successive cauliflower plantings and *Rhizoctonia solani* AG 2-1 inoculations on disease suppressiveness of a suppressive and conducive soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 804-812, 2010.

POVEDA, J. JIMÉNEZ-GÓMEZ, A.; SAATI-SANTAMARÍA, Z.; USATEGUI-MARTÍN, R.; RIVAS, R.; GARCÍA-FRAILE, P. Mealworm frass as a potential biofertilizer and abiotic stress tolerance-inductor in plants. **Applied Soil Ecology**, v. 142, p. 110-122, 2019.

RAVICHANDRA, N. G. **Horticultural Nematology**. New Delhi: Springer India, 2014. 412 p.

REIS, A.; COSTA, H.; BOITEUX, L. S.; LOPES, C. A. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 426-428, 2005.

SANTOS JÚNIOR, W. N.; CARVALHO, M. R. M.; CABRAL, C. S.; REIS, A. **Seleção de híbridos e acessos de tomate para resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 19 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 62).

SASSER, J. N.; FREACKMAN, D. W. A world perspective on nematology: The role of the society. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Eds.). **Vistas on Nematology: a Commemoration of the Twenty-Fifth Anniversary of the Society of Nematologists**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 7-14.

SELALEDI, L.; MBAJIORGU, C. A.; MABELEBELE, M. The use of yellow mealworm (*T. molitor*) as alternative source in poultry diets: a review. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, n. 1, p. 7-16, 2020.

SHI, W.; LI, W.; WEI, G.; TIAN, R.; LI, C.; WANG, B.; LIN, R.; SHI, C.; ZHOU, B.; GAO, Z. The occurrence of potato common scab correlates with the community composition and function of the geocaulosphere soil microbiome. **Microbiome**, v. 7, n. 14, p. 1-18, 2019.

SIKANDAR, A.; JIA, L.; WU, H.; YANG, S. *Meloidogyne enterolobii* risk to agriculture, its present status and future prospective for management. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1-16, 2023.

SIKANDAR, A.; ZHANG, M. Y.; WANG, Y. Y.; ZHU, X. F.; LIU, X. Y.; FAN, H. Y.; XUAN, Y. H.; CHEN, L. J.; DUAN, Y. X. Review article: *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode) a risk to agriculture. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 18, n. 1, p. 1679-1690, 2020.

SINGH, R.; BISWAS, S. K.; NAGAR, D.; SINGH, J.; SINGH, M.; MISHRA, Y. K. Sustainable integrated approach for management of fusarium wilt tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Synder and Hansen. **Sustainable Agriculture Research**, v. 4, n. 1, p. 138-147, 2015.

SRINIVAS, C.; DEVI, D. N.; MURTHY, K. N.; MOHAN, C. D.; LAKSHMEESHA, T. R.; SINGH, B. P.; KALAGATUR, N. K.; NIRANJANA, S. R.; HASHEM, A.; ALQARAWI, A. A.; TABASSUM, B.; ABD-ALLAH, E. F.; NAYAKA, S. C.; SRIVASTAVA, R. K. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: biology to diversity – a review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1315-1324, 2019.

TANAKA, Y.; HONDA, H.; OHSAWA, K.; YAMAMOTO, I. A sex attractant of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor* L., and its role in the mating behavior. **Journal of Pesticide Science**, v. 11, n. 1, p. 49-55, 1986.

URRA, J.; ALKORTA, I.; GARBISU, C. Potential benefits and risks for soil health derived from the use organic amendments in agriculture. **Agronomy**, v. 9, n. 9, p. 1-23, 2019.

VILELA, R. M. I.; MARTINI, V. C.; GONÇALVES, L. A.; KUSTER, V. C.; OLIVEIRA, D. C. Structure and development of root gall induced by *Meloidogyne javanica* in *Glycine max* L. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 3, p. 1033-1048, 2019.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; WOO, S. L.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; RUOCCO, M.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 127-139, 2014.

## SEGUNDA PARTE

### ARTIGO 1 – Yellow mealworm waste amendment (*Tenebrio molitor*): phytotoxicity and its effect on tomato growth promotion

#### ABSTRACT

The incorporation of organic amendments into the soil has several long-term beneficial effects. These effects include: carbon sequestration, increase in the microbial population, water retention capacity, reduction in soil density, greater supply of nutrients and greater amounts of organic nitrogen. The waste derived from the production of *Tenebrio molitor* larvae from intestinal feces, exoskeleton and feed remains is reported as a source of organic fertilizer for agriculture. However, the type of waste, the amount incorporated into the soil, the degree of decomposition, and the characteristics of the substrate/soil influence plant growth. Thus, the objective of this article was to evaluate the phytotoxicity of yellow mealworm waste amendment (*T. molitor*) and its effect on tomato growth promoting (*Solanum lycopersicum* L.). The waste was incorporated into the soil at concentrations of 0, 1, 2, 3, 4 and 5% (v/v) and incubated at different times. Incubation times were 0, 10 and 20 days. Ten tomato seeds ‘Santa Cruz Kada’ were sown. During 25 days after sowing, seedling emergence was evaluated, with subsequent determination of the percentage of emerged seedlings and the emergence speed index. At the end of 25 days after sowing, the plants (aerial part and roots) were washed, weighed and dried, determining the fresh and dry plant weight. For the 20-day incubation period, emergence and emergence speed index were not impaired with increasing waste concentrations. During this period, the weight of the plants was directly proportional to the increasing concentrations of the waste. The concentration of 5% of the waste provided an increase in weight of 127.7%, and up to 383.3% in relation to the control. The incorporation and incubation of yellow mealworm waste into the soil makes a greater quantity of nutrients available to plants, promoting their growth and development, without causing phytotoxicity. Furthermore, the waste contains a microbiota that can play several ecological roles for plant growth when incorporated into the soil, such as the production of siderophores, the phytohormone auxin and nitrogen fixation. Chitin is also found in the waste, an important polymer that performs several functions in agriculture.

**Keywords:** Organic fertilizer. Plant growth promoting. *Solanum lycopersicum* L. *Tenebrio molitor* larvae.

## 1 INTRODUCTION

The application of organic matter to improve soil quality and fertility is a practice that has been used since past centuries. More than 2000 years ago, the Chinese already used organic matter in agriculture. Greeks and Romans already applied animal manure and human sewage to the soil, recognizing that animal and plant waste could be applied to benefit crop growth. Organic matter plays a critical role in the soil ecosystem, as it provides substrates for the

decomposition of microorganisms, improves soil structure and water retention, reduces the toxicity of heavy metals, and increases natural suppression against soilborne pathogens, among other papers (GOSS et al., 2013).

The commercial production of insects as a source of protein, both for use in animal feed and for human consumption, has intensified in recent decades. Compared to other protein sources, the advantage of insect farming is that it requires less space and less water. Furthermore, insects have a higher food conversion rate and a fast life cycle, not requiring in-depth training for breeding (MORUZZO et al., 2021).

At a market level, the insect business is growing rapidly. Since 2000, companies have been founded in the United States, Canada, South Africa, Asia, and Europe. Large-scale commercial production focuses more on species for animal feed, mainly *Hermetia illucens*, *Musca domestica* and *Tenebrio molitor* (SOGARI et al., 2019). These species receive increasing attention because they can potentially value organic waste, which globally amounts to 1.3 billion tons per year (FAO, 2011; VELDKAMP et al., 2012).

*Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) is an insect that has a wide distribution throughout the world. It is known to be a pest of stored grains, flour, and bran, although it is capable of consuming paper, cardboard, softwood, and dried meat, among others. The insect reproduces easily, and the larvae add high protein value. This rapid production is due to less energy invested by the insect to maintain a constant body temperature. Thus, energy is directed towards growth and development, requiring less food to gain mass (SELALEDI et al., 2020).

In the application of circular economy concepts, the creation of larvae represents a promising potential to produce sustainable protein sources. The high versatility of this insect means that it can be applied in various industries, such as pharmaceutical, food, agricultural, etc. Reusing waste can reduce environmental impacts, while satisfying the growing demands of larvae for commercialization (MORUZZO et al., 2021).

The waste derived from the production of *T. molitor* larvae from intestinal feces, exoskeleton and feed remains is reported as a source of organic fertilizer for agriculture, with positive balances of macronutrients and micronutrients, such as nitrogen, phosphorus, potassium, copper, and zinc (HOUBEN et al., 2020; HOUBEN et al., 2021; LIU et al., 2003).

The type of waste, the amount incorporated into the soil, the degree of decomposition, and the characteristics of the substrate/soil influence plant growth. Seeking to meet the demands of different agricultural sectors and society's desires for sustainable agriculture, the objective of this article was to evaluate the phytotoxicity of yellow mealworm waste amendment (*T. molitor*) and its effect on tomato growth promoting.

## 2 MATERIAL AND METHODS

The experimental trials were conducted at the Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Campus Morrinhos, Morrinhos city, Goiás State, Brazil (17°49'12.0"S, 49°12'09.5"W and 836 m altitude).

### 2.1 Obtaining yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*)

The waste from the yellow mealworm (*T. molitor*) was obtained through the donation of commercial production from the companies 'Kaissara Insetos Biofábrica' (Alem Paraiba city, Minas Gerais State, Brazil) and 'Agrin Criação e Comércio de Insetos' (Avare city, Sao Paulo State, Brazil). Batches of waste were sent immediately after cleaning the insect boxes. For better storage, the waste remained in a cool and ventilated environment until shipping. Upon arrival, it was homogenized and stored in a B.O.D. incubator. (Biochemical Oxygen Demand) LT 320 TFP-I (LIMATEC) at 4 °C in the dark. A homogeneous sample of the waste was placed in a 1000 mL amber glass bottle and stored in a freezer at -20 °C for chemical analysis.

In both companies, insects were raised and maintained at a temperature of  $28 \pm 2$  °C and a relative humidity of 70% in permanent darkness. The diet was based on poultry feed and wheat bran.

### 2.2 Evaluation of the phytotoxicity of yellow mealworm waste amendment (*Tenebrio molitor*) and its effect in tomato growth promotion (*Solanum lycopersicum* L.)

To evaluate the toxicity of the waste, non-sterilized natural soil was used, with soil collected below the mulch to a depth of 20 cm. A homogeneous soil sample was taken for initial physical-chemical analysis (clay = 437.6 g/kg, silt = 60.0 g/kg, sand = 502.4 g/kg, pH H<sub>2</sub>O = 5.5, P = 1.4 mg/dm<sup>3</sup>, K = 22.9 mg/dm<sup>3</sup>, Na = 4.7 mg/dm<sup>3</sup>, H+AL = 1.8 cmolc/dm<sup>3</sup>, Al = 0.03 cmolc/dm<sup>3</sup>, Ca = 0.3 cmolc/dm<sup>3</sup>, Mg = 0.1 cmolc/dm<sup>3</sup>, Fe = 15.6 mg/kg, Cu = 1.6 mg/kg, Mn = 1.5 mg/kg, and Zn = 0.3 mg/kg).

The trial was conducted in plastic pots with a capacity of 300 mL in a screened greenhouse with a metal structure containing a layer of black shade with 70% light transmission. The waste, obtained as described in item 2.1, was incorporated into the entire soil of the pot at concentrations of 0, 1, 2, 3, 4 and 5% (v/v) (Figure 1) and incubated at different times. Incubation times were 0, 10 and 20 days. The initial irrigation of the soil was carried out through capillarity, to obtain the initial field capacity in all pots. Subsequently, soil moisture was controlled and adjusted to reach 60% of field capacity.

**Figure 1:** Incorporation of yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) into the soil. From left to right: 0, 1, 2, 3, 4 and 5% (v/v).



Source: From the author (2023)

At the end of the last incubation period, simple samples of 10 mL of soil were collected. These were homogenized to compose a composite sample for chemical analysis. The soil samples were dried in the shade for 20 days and stored in a 50 mL Falcon tube in a cool, ventilated environment for later analysis.

Ten tomato seeds ‘Santa Cruz Kada’ were sown 0.5 cm deep in each pot. Each pot constituted an experimental plot. During 25 days after sowing, seedling emergence was evaluated, with subsequent determination of the percentage of emerged seedlings and the emergence speed index. At the end of 25 days after sowing, the plants (aerial part and roots) were removed from the pots, washed carefully under running water and dried with paper towels. Immediately afterwards, were weighed on a semi-analytical balance (0.001 g) BL3200H (SHIMADZU®) to determine the plant fresh weight. Then, the plants were packed in paper bags and taken to the drying oven with forced air circulation at 65 °C for 96 hours, during which period at the end the weight of the dried plants became constant. Afterwards, weighing was carried out on a semi-analytical balance to determine the plant dry weight.

The trial was conducted in a randomized block design using a 6x3 factorial scheme (six waste concentrations and three incubation times) with five replications. The experimental trial was repeated once, following the same procedures and steps as the first.

### 2.3 Data analysis

The results were subjected to the assumptions of analysis of variance using the Shapiro-Wilk test for normality of errors and the Bartlett test for homogeneity of variances. The data were subjected to significance using the F test at 5% probability. Significant data were fitted to the regression model. For the incubation time variable, the means were compared using the Tukey test at 5% probability. The analyzes were implemented in the statistical software R version 4.0.3 (R CORE TEAM, 2023).

## 3 RESULTS

In the result of the chemical analysis of the yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*), it was possible to observe: C = 40.8%, N = 3.7%, C/N ratio = 11.0, organic matter = 83.0%, pH H<sub>2</sub>O = 6.1, P = 3.8%, K = 2.4%, Ca = 0.2%, Mg = 0.6%, S = 0.5%, B = 6.0 mg/kg, Fe = 353.0 mg/kg, Cu = 44.0 mg/kg, Mn = 585.0 mg/kg, and Zn = 272.5 mg/kg.

Regarding soil analysis of increasing concentrations of yellow mealworm waste (*T. molitor*) during incubation times in the soil (Table 1 and 2), an increasing increase in the levels of pH, P, K, Na, Ca, Mg, Cu, Mn, and Zn was observed for all incubation times. However, the pH level underwent greater changes at 10 and 20 days of incubation. The levels of potential acidity (H+Al) and effective acidity (Al) were increased during the incubation time of 0 day. However, H+Al was reduced at 10 and 20 days of incubation. At all incubation times there was a reduction in Fe levels in the soil.

**Table 1.** Result of the chemical analysis of the soil of the studied treatments of yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) x incubation times in the soil. Part 1.

Incubation time	Concentration (%)	pH	P	K	H+Al	Na	Al
		H <sub>2</sub> O	Mehlich	Mehlich		Mehlich	KCl
			mg/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>
0 day	0	5.5	1.4	22.9	1.8	4.7	0.03
	1	5.9	4.3	106.3	2.2	12.1	0.02
	2	6.1	7.5	170.0	2.5	16.1	0.03
	3	6.2	11.4	254.8	2.7	20.7	0.04
	4	6.3	27.7	403.3	3.2	26.7	0.05
	5	6.2	37.7	438.6	3.2	28.0	0.06
10 days	0	5.8	1.2	32.8	1.8	10.7	0.02
	1	6.8	2.0	144.5	1.8	18.7	0.02
	2	7.1	2.7	233.6	1.5	17.4	0.02
	3	7.1	4.4	325.5	1.3	18.7	0.04
	4	7.0	5.4	459.8	1.1	25.4	0.04
	5	7.0	5.7	445.7	1.3	21.4	0.03
20 days	0	5.9	1.3	37.0	2.2	18.7	0.02
	1	6.9	1.7	119.0	1.3	18.7	0.02
	2	7.2	2.5	233.6	1.5	22.7	0.03
	3	7.2	3.9	318.4	1.3	24.7	0.04
	4	7.2	5.0	431.5	1.1	32.0	0.03
	5	7.1	6.6	502.2	0.9	32.0	0.03

Source: From the author (2023)



**Table 2.** Result of the chemical analysis of the soil of the studied treatments of yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) x incubation times in the soil. Part 2.

Incubation time	Concentration (%)	Ca	Mg	Fe	Cu	Mn	Zn
		KCl	KCl	Mehlich	Mehlich	Mehlich	Mehlich
		cmolc/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
0 day	0	0.3	0.1	15.6	1.6	1.5	0.3
	1	0.5	0.3	10.2	1.6	2.6	1.1
	2	0.6	0.6	8.2	1.6	3.3	1.4
	3	0.8	0.7	7.6	1.6	4.0	2.0
	4	0.9	1.1	6.0	1.6	4.5	2.3
	5	1.0	1.1	6.3	1.7	5.9	3.0
10 days	0	0.4	0.1	15.3	1.9	1.4	0.8
	1	0.7	0.3	11.1	2.0	2.3	0.7
	2	0.8	0.5	9.9	2.1	3.1	1.2
	3	1.2	0.6	7.6	2.0	4.0	1.8
	4	1.1	0.8	8.2	2.2	4.6	2.1
	5	1.1	0.9	7.8	2.1	4.9	2.3
20 days	0	0.4	0.2	15.9	1.9	1.3	0.2
	1	0.8	0.3	10.6	2.2	2.3	0.7
	2	1.1	0.4	8.5	2.1	3.0	1.3
	3	1.3	0.5	8.5	2.1	3.8	1.8
	4	1.2	0.6	8.9	2.2	4.2	2.1
	5	1.4	0.7	10.0	2.1	4.4	2.2

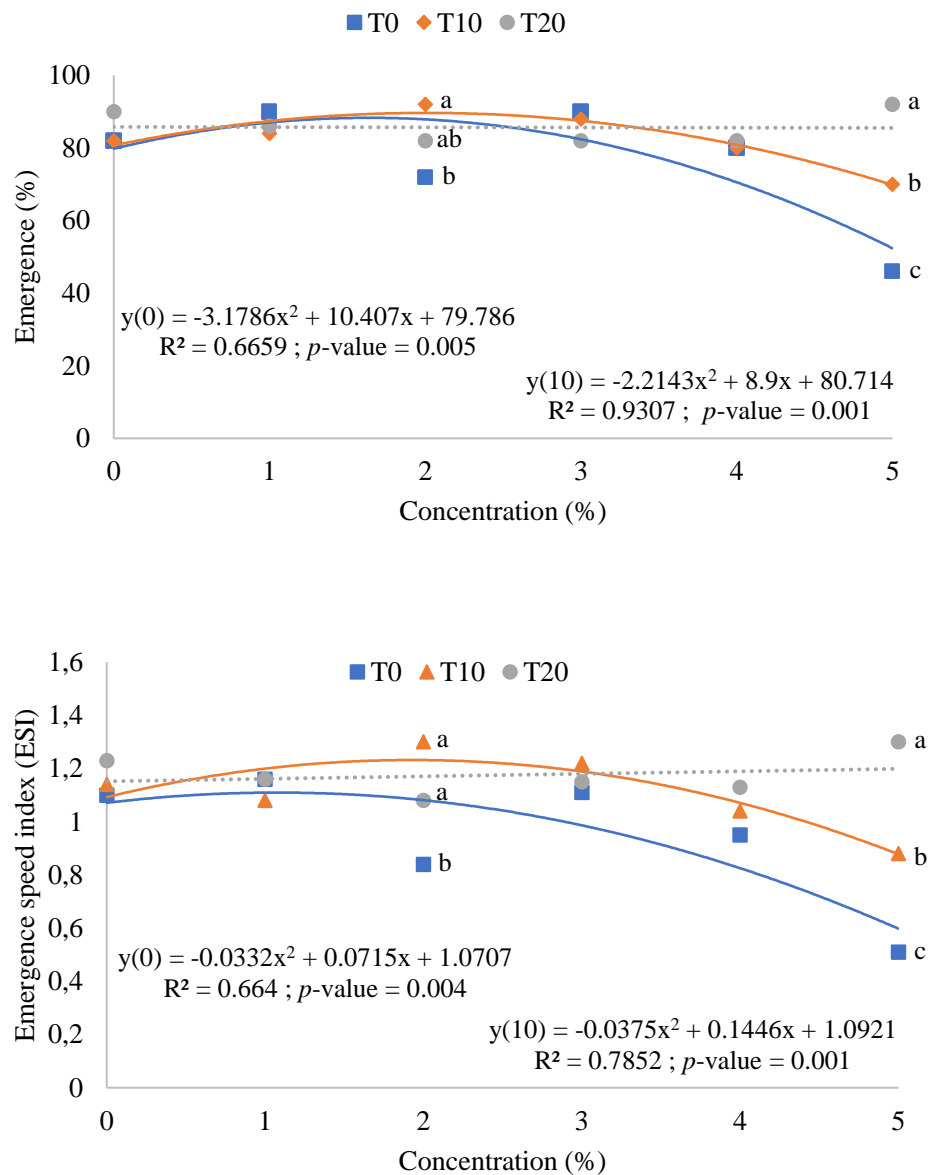
Source: From the author (2023)

A significant interaction was observed between the factors studied, that is, between the concentrations of the waste and the different incubation times in the soil for all the variables studied. The waste concentrations differed between the incubation times evaluated. During the 20-day incubation period, waste concentrations had a positive influence on the variables evaluated, differing from other incubation times.

In the emergence evaluation (coefficient of variation = 12.85% and  $p$ -value < 0.001), it was observed that for the incubation periods of 0 and 10 days there was a quadratic behavior for the observed means. This shows that the emergence was affected, reaching some increases in intermediate concentrations, but soon decreasing with the following concentrations. For the 20-day incubation period, emergence was not impaired with increasing waste concentrations (Figure 2 and 3).

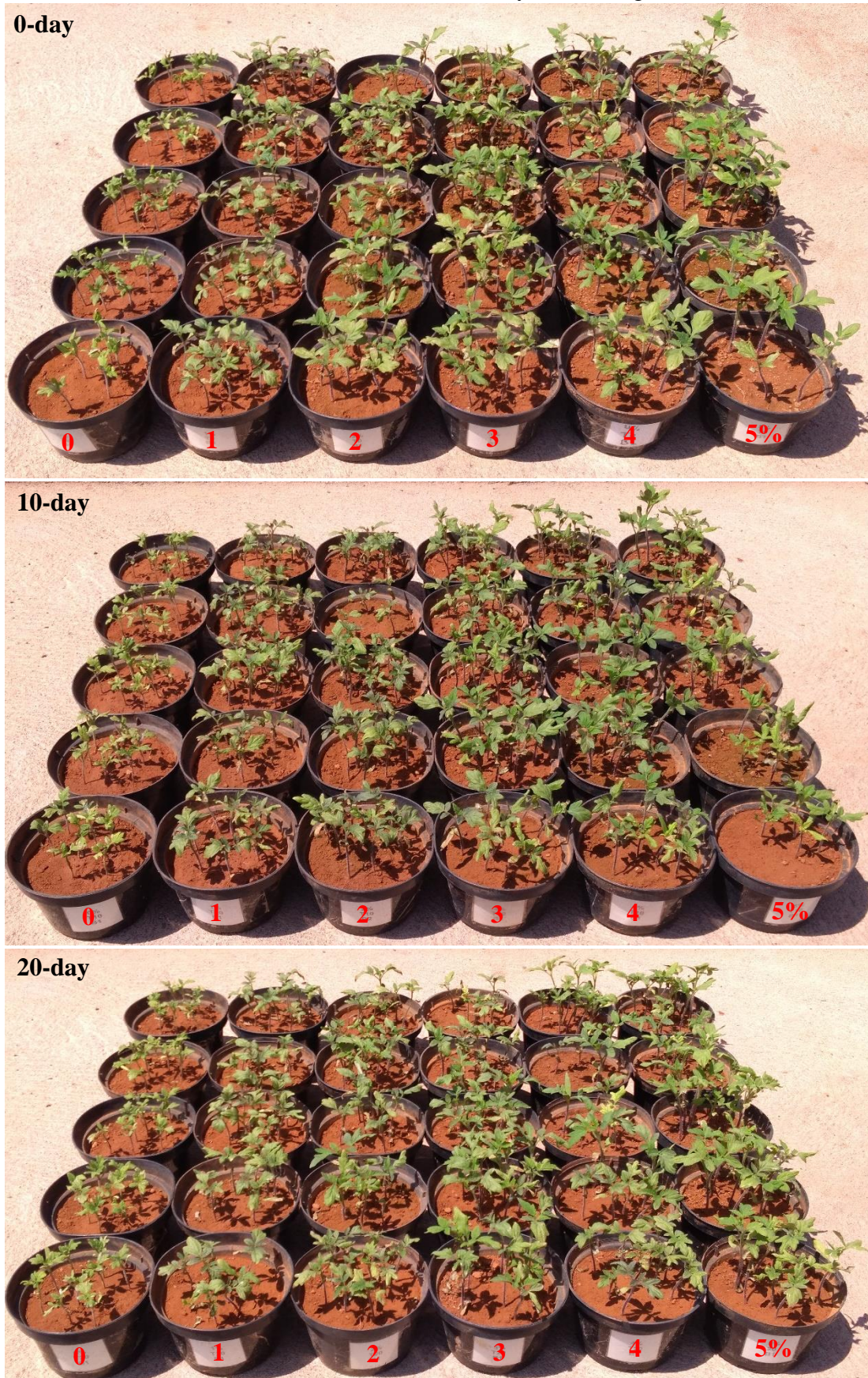
For emergence speed index (coefficient of variation = 14.22% and  $p$ -value < 0.001), it was also possible to observe that for the incubation periods of 0 and 10 days there was a quadratic behavior of the data. This shows that the speed of emergence was also affected, reaching some increasing points at intermediate concentrations, but soon decreasing with the following ones. For the 20-day incubation period, the speed at which the seedlings emerged was not affected by the increasing concentrations of the waste.

**Figure 2:** Evaluation of emergence and emergence speed index (ESI) of seedlings in relation to concentrations of yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) x incubation times in the soil in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) after 25 days of sowing. Means followed by a different letter at the point differ statistically at a 5% probability level using the Tukey test.



Source: From the author (2023)

**Figure 3.** Tomato emergence in relation to yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) concentrations x incubation times in the soil after 25 days of sowing.

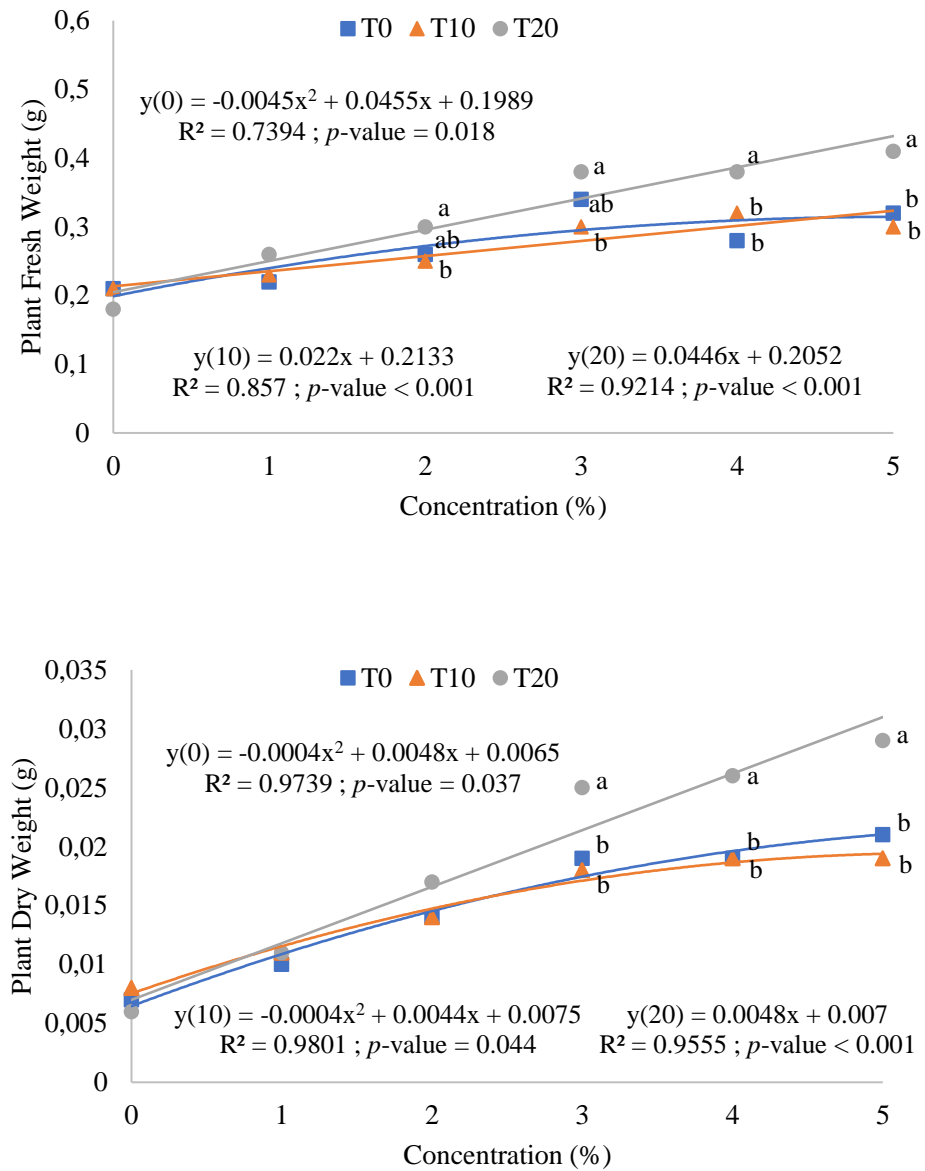


Source: From the author (2023)

For the plant fresh weight (coefficient of variation = 9.89% and  $p$ -value < 0.001), the averages for the incubation time of 0 day of the waste in the soil showed a quadratic behavior, that is, with increasing concentrations of the waste the weight increased, but reached a maximum value on the curve with a tendency to decrease at the end of it. Differently, the behavior of the data from the incubation times of 10 and 20 days is represented by an increasing linear line, that is, the plant fresh weight increased with increasing concentrations of the waste (Figure 4 and 5). The greatest increase was observed for the concentration of 5% of the waste in the incubation time of 20 days, with 127.7% in relation to the control.

In relation to the plant dry weight (coefficient of variation = 15.91% and  $p$ -value < 0.001), the averages for the waste incubation times in the soil of 0 and 10 days showed a quadratic behavior. With increasing waste concentrations, the weight increased, but reached a maximum value on the curve with a tendency to decrease at the end of it. On the other hand, in the 20-day incubation time, the weight was directly proportional to the increase in waste concentrations. The 5% concentration provided the largest increase, with 383.3% in relation to the control.

**Figure 4.** Assessment of plant fresh and dry weight in relation to yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) concentrations x incubation times in the soil in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) after 25 days of sowing. Means followed by a different letter at the point differ statistically at a 5% probability level using the Tukey test.



Source: From the author (2023)

**Figure 5.** Tomato plants in relation to yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) concentrations x incubation times in the soil after 25 days of sowing.



Source: From the author (2023)

#### 4 DISCUSSION

Although insect farming is a new concept for Western countries in the world, in Eastern countries it has been happening for decades (HALLORAN et al., 2018). However, until recently, there was little literature available on the use of yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*). Considered a byproduct, it has received less research attention than its main product. However, a growing number of studies have been published on the use of waste in recent years, focusing mainly on its fertilizer characteristics. Research on the use of insect waste to stimulate plant defense against pathogens has also emerged in recent years, which will bring more attention to this topic in the future (POVEDA, 2021).

The direct application of this waste to agricultural crops increases the biomass of plants, such as chard (*Beta vulgaris* var. *cicla*) (POVEDA et al., 2019), ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) (HOUBEN et al., 2021; WATSON et al., 2021), barley (*Hordeum vulgare* L.) (HOUBEN et al., 2020); mung bean (*Vigna radiata*) (LIU et al., 2003), in addition to the mushroom (*Agrocybe chaxingu*) (ZENG et al., 2017). It also has potential in inducing plant tolerance to salinity, drought, and flooding (POVEDA et al., 2019). Finally, it has been reported to stimulate the activity of earthworms in the soil (*Lumbricus terrestris* L.), leading to increased nutrient absorption by barley plants (DULAURENT et al., 2020).

In a study of nutrient mineralization of yellow mealworm waste (*T. molitor*) Houben et al. (2020) showed that 37% of total carbon (C) was mineralized 7 days after incubation, with a gradual and slow subsequent process after this time interval. As for the nitrogen (N) content, it showed a similar pattern, with rapid mineralization in the first 17 days of incubation of the waste in the soil, 37% of the total N. The authors also verified effects on soil properties after incorporation of the waste, such as a decrease in pH, due to the slightly acidic nature of the waste, and the production of CO<sub>2</sub> and organic acids during its rapid decomposition. Additionally, in a rapid nitrification process, additional protons can lead to a decrease in soil pH (WATSON et al., 2021). This can cause the waste to present some toxicity in the medium in the first days of incubation, which contributes to the explanation of the negative interference of the incubation times of 0 and 10 days the emergence and speed with which seedlings emerged in the present study.

When observing the chemical analysis of the soil, the levels of phosphorus (P), potassium (K), sodium (Na), calcium (Ca), magnesium (Mg), manganese (Mn), copper (Cu), and zinc (Zn) were directly proportional to the increasing concentrations of the waste. The rapid mineralization of waste leads to a rapid presence of NPK more readily available to the plant, and gradually provides nutrients throughout the growth period (HOUBEN et al., 2020;

Houben et al., 2021). Since N is a key nutrient for plant growth Lazcano et al. (2013) reported that organic waste increases the availability of N not only by supplying it, but also by renewing N from organic matter by increasing the activity of microorganisms in the medium. Furthermore, it is known that organic matter helps retain soluble nutrients, reducing their leaching process (Yang et al., 2008). This helps to explain the increase in fresh and dry weight of tomato plants when subjected to increasing concentrations of yellow mealworm waste (*T. molitor*).

The intestinal microbiota of insects can contain several microorganisms that perform different internal functions. One of them is linked to the enzymatic breakdown of cellulose or even some types of plastics. Another function is nutritional synthesis, in addition to eliminating toxic compounds in the substrate. In insect waste, the microbiota can play several ecological roles when it is incorporated into the soil (Poveda, 2021). In work carried out by Poveda et al. (2019) the microbial community of yellow mealworm waste (*T. molitor*) was sequenced, with detection of 4772 bacterial species and 1225 fungal species, many of which are considered plant growth promoters. From this total number of microorganisms sequenced, the authors isolated 188 isolates, which presented some characteristic of promoting plant growth, including the production of siderophores, the phytohormone auxin and nitrogen fixation. The reduction in iron (Fe) levels observed in the soil analysis with increasing waste concentrations contributes to explaining one of the roles of the waste microbiota in the present study. Since bacteria, mainly *Pseudomonas* spp., have the ability to capture Fe from the environment through the production of siderophores (Schalk et al., 2020).

The of *T. molitor* larvae can go through up to 20 stages of ecdysis before transforming into a pupa, molting at each new stage. As a result, fragments of the exoskeleton, rich in chitin, end up being discarded in most industrial production systems (Vignerón et al., 2019). In the waste of yellow mealworm (*T. molitor*), a large amount of peritrophic membrane is also found, composed of proteins (peritrophins) and chitin (Moreira, 2013). This membrane helps the insect's digestion, as well as protecting against chemical and/or mechanical damage to its intestine (Terra, 2001), being constantly renewed and excreted along with the insect's excrement.

Chitin is the most abundant polymer after cellulose and its most important derivative is chitosan, a polysaccharide obtained from the deacetylation of chitin. Chitin and chitosan are biocompatible, biodegradable, and non-toxic polymers (Jayakumar et al., 2005). As benefits of its use in agriculture, chitosan acts to promote plant growth (Hossain and Iqbal, 2016; Salachna and Zawadzinska, 2014), in inducing tolerance to abiotic stress



(PANDEY and DE, 2017), in increasing stomatal conductance and reducing transpiration (IRITI et al., 2009), in water retention in the soil (NARAYANAN and DHAMODHARAN, 2015), in the remediation of heavy metals (KAMARI et al., 2011), as a soil conditioner (ANGELIM et al., 2013), among others.

It is possible that the microorganisms present in the yellow mealworm waste (*T. molitor*) also help in the degradation of the chitin contained in the waste through the secretion of enzymes. It is known that the insect's exoskeleton can be degraded by microorganisms present in the soil, such as entomopathogenic fungi and chitinolytic bacteria (SHARP, 2013).

The incorporation and incubation of the yellow mealworm waste (*T. molitor*) in the soil for a certain period makes a greater quantity of nutrients available to the plants, promoting their growth and development, without causing phytotoxicity. Furthermore, the waste contains a microbiota that can play several ecological roles for plant growth when incorporated into the soil, such as the production of siderophores, the phytohormone auxin and nitrogen fixation. Chitin is also found in the waste, an important polymer that plays several roles in agriculture, as previously reported.

## 5 CONCLUSIONS

There was no toxicity to tomato seedlings when the yellow mealworm waste (*Tenebrio molitor*) was incorporated into the soil for 20 days. During this period, the weight of the tomato plants was directly proportional to the increasing concentrations of the waste.

## REFERENCES

ANGELIM, A. L.; COSTA, S. P.; FARIAS, B. C. S.; AQUINO, L. F.; MELO, V. M. M. An innovative bioremediation strategy using a bacterial consortium entrapped in chitosan beads. **Journal of Environmental Management**, v. 127, p. 10-17, 2013.

DULAURENT, A. M.; DAOULAS, G.; FAUCON, M. P.; HOUBEN, D. Earthworms (*Lumbricus terrestris* L.) mediate the fertilizing effect of frass. **Agronomy**, v. 10, n. 6, p. 1-8, 2020.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Global food losses and food waste – extent, causes and prevention**. Rome: Italia, 2011. 37 p.

GOSS, M. J.; TUBEILEH, A.; GOORAHOO, D. A review of the use of organic amendments and the risk to human health. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in Agronomy**. Oxford: Elsevier, 2013, v. 120, cap. 5, p. 275-379.

HALLORAN, A.; HANSEN, H. H.; JENSEN, L. S.; BRUUN, S. Comparing environmental impacts from insects for feed and food as an alternative to animal production. In: HALLORAN,

A.; FLORE, R.; VANTOMME, P.; ROOS, N. (Eds.). **Edible insects in sustainable food systems**. Springer International Publishing, 2018, p. 163-181.

HOSSAIN, M. S.; IQBAL, A. Effect of shrimp chitosan coating on postharvest quality of banana (*Musa sapientum* L.) fruits. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 1, p. 277-283, 2016.

HOUBEN, D.; DAOULAS, G.; DULAURENT, A. M.; Assessment of the short-term fertilizer potential of mealworm frass using a pot experiment. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 2021.

HOUBEN, D.; DAOULAS, G.; FAUCON, M. P.; DULAURENT, A. M. Potential use of mealworm frass as a fertilizer: impact on crop growth and soil properties. **Scientific Reports**, v. 10, n. 4659, p. 1-9, 2020.

IRITI, M.; PICCHI, V.; ROSSONO, M.; GOMARASCA, S.; LUDWIG, N.; GARGANO, M.; FAORO, F. Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 493-500, 2009.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAM, M.; REIS, R. L.; MANO, J. F. Graft copolymerized chitosan - present status and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, n. 2, p. 142-158, 2005.

KAMARI, A.; PULFORD, I. D.; HARGREAVES, J. S. Chitosan as a potential amendment to remediate metal contaminated soil – a characterization study. **Colloids and Surfaces B Biointerfaces**, v. 82, n. 1, p. 71-80, 2011.

LAZCANO, C.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; REVILLA, P.; DOMÍNGUEZ, J. Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 723-733, 2013.

LIU, H.; YANG, Z.; TAN, D.; WU, Z. Study on the fertilizer efficiency of the frass of *Tenebrio molitor* L. **Journal of Quanzhou Normal University (Natural Science)**, v. 21, n. 4, p. 68-71, 2003.

MOREIRA, N. R. **Fisiologia molecular intestinal de *Tenebrio molitor***. 2013. 300 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

MORUZZO, R.; RICCIOLI, F.; DIAZ, S. E.; SECCI, C.; POLI, G.; MANCINI, S. Mealworm (*Tenebrio molitor*): potential and challenges to promote circular economy. **Animals**, v. 11, p. 1-16, 2021.

NARAYANAN, A.; DHAMODHARAN, R. Super water-absorbing new material from chitosan, EDTA and urea. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 337-343, 2015.

PANDEY, P.; DE, N. Effect of chitosan based superabsorbent on water retention behavior of soil and seedling growth of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Indian Journal of Ecology**, v. 44, n. 5, p. 456-460, 2017.

POVEDA, J. Insect frass in the development of sustainable agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 41, n. 5, p. 1-10, 2021.

POVEDA, J. JIMÉNEZ-GÓMEZ, A.; SAATI-SANTAMARÍA, Z.; USATEGUI-MARTÍN, R.; RIVAS, R.; GARCÍA-FRAILE, P. Mealworm frass as a potential biofertilizer and abiotic stress tolerance-inductor in plants. **Applied Soil Ecology**, v. 142, p. 110-122, 2019.

R CORE TEAM, 2023. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>. (R version 4.0.3).

SALACHNA, P.; ZAWADZINSKA, A. Effect of chitosan on plant growth, flowering and corms yield of potted freesia. **Journal of Ecological Engineering**, v. 15, n. 3, p. 97-102, 2014.

SCHALK, I. J.; RIGOUIN, C.; GODET, J. An overview of siderophore biosynthesis among fluorescent Pseudomonads and new insights into their complex cellular organization. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 1447-1446, 2020.

SELALEDI, L.; MBAJIORGU, C. A.; MABELEBELE, M. The use of yellow mealworm (*T. molitor*) as alternative source in poultry diets: a review. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, n. 1, p. 7-16, 2020.

SHARP, R. G. A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. **Agronomy**, v. 3, p. 757-793, 2013.

SOGARI, G.; AMATO, M.; BIASATO, I.; CHIESA, S.; GASCO, L. The potential role of insects as feed: a multi-perspective review. **Animals**, v. 9, n. 4, p. 1-15, 2019.

TERRA, W. R. The origin and functions of the insect peritrophic membrane and peritrophic gel. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 47, n. 2, p. 47-61, 2001.

VELDKAMP, T.; VAN DUINKERKEN, G.; VAN HUIS, A.; LAKEMOND, C. M. M.; OTTEVANGER, E.; BOSCH, G.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets – a feasibility study**. Wageningen: Wageningen UR Livestock Research, 2012. 48 p. (Report, 638).

VIGNERON, A.; JEHAN, C.; RIGAUD, T.; MORET, Y. Immune defenses of a beneficial pest: the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. 138, p. 1-17, 2019.

WATSON, C.; PREIBING, T.; WICHERN, F. Plant nitrogen uptake from insect frass is affected by the nitrification rate as revealed by urease and nitrification inhibitors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, n. 721840, p. 1-14, 2021.

YANG, L.; LI, T.; LI, F.; LEMCOFF, J. H.; COHEN, S. Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. **Scientia Horticulturae**, v. 116, n. 1, p. 21-26, 2008.

ZENG, X.; HAN, F.; YE, J.; ZHONG, Y. Recycling spent *Pleurotus eryngii* substrate supplemented with *Tenebrio molitor* feces for cultivation of *Agrocybe chaxingu*. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 6, n. 4, p. 275-280, 2017.

## TERCEIRA PARTE

### ARTIGO 2 – Resíduo da larva de *Tenebrio molitor* no controle da murcha-de-Fusarium e de *Meloidogyne incognita* em tomateiro

#### RESUMO

Os fungos causadores de murchas vasculares (*Fusarium oxysporum*) e os fitonematoides (*Meloidogyne* spp.) estão entre os patógenos de importância à agricultura brasileira e mundial, impactando a produtividade das culturas agrícolas de importância econômica ou de subsistência. A incorporação de resíduos orgânicos ao solo apresenta vários efeitos benéficos. Podem atuar sobre patógenos por meio da liberação de compostos tóxicos produzidos durante a decomposição, e/ou pelo estímulo de microrganismos antagonistas do solo e indução de resistência sistêmica nas plantas. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 e *Meloidogyne incognita* raça 1. O efeito do extrato aquoso foi avaliado sobre o crescimento micelial e a germinação de microconídios de *Fol 3*, e sobre a eclosão, mobilidade e mortalidade de J2 de *M. incognita*. Também, avaliou-se o efeito de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre o crescimento micelial de *Fol 3*, e sobre a eclosão, mobilidade e mortalidade de J2 de *M. incognita*. A supressividade do resíduo foi avaliada sobre *Fol 3* e sobre *M. incognita* em tomateiro. A menor concentração do extrato aquoso (10%) reduziu em 84,32% a germinação de microconídios de *Fol 3*. O crescimento micelial do fungo foi incrementado com as concentrações do extrato. A mobilidade de J2 de *M. incognita* foi reduzida em 93,0% com a menor concentração do extrato (10%). Também apresentou eficiência de 79,8% sobre a mortalidade de J2 e reduziu a eclosão em 86,3%. Sobre os compostos voláteis emitidos pelo resíduo, a menor concentração (1%) reduziu o crescimento micelial de *Fol 3* em 18,2%. A concentração de 1% do resíduo reduziu a mobilidade em 90,9%, apresentou efeito nematocida de 85,5% e reduziu a eclosão de J2 em 97,3%. A concentração de 5% do resíduo reduziu em 17,8% a severidade externa da murcha-de-Fusarium no tomateiro, representada pela AACPD. A concentração incrementou a fotossíntese (69,3%), a eficiência do uso da água (252,3%) e a biomassa aérea e radicular (328,5%). A maior redução da população de J2 no solo (87,8%), de galhas (24,0%) e de ovos + J2 (57,0%) no sistema radicular do tomateiro foi apresentada pela concentração de 5% do resíduo. Observou-se incremento de biomassa aérea e radicular com as concentrações do resíduo, com redução dos danos fisiológicos. A produtividade do tomateiro foi incrementada em até 163,1% com a concentração de 5% do resíduo. Este é o primeiro estudo relacionando o resíduo da larva de *T. molitor* e seu efeito supressivo a fitopatógenos, *Fol 3* e *M. incognita*. A incubação do resíduo ao solo disponibiliza maior quantidade de nutrientes às plantas, promovendo seu crescimento sem ocasionar fitotoxidez. O resíduo contém uma microbiota, que pode desempenhar vários papéis ecológicos às plantas, e a quitina, importante polímero para a agricultura. Oligômeros de quitina e outros compostos tóxicos, voláteis ou não, estão envolvidos na redução da mobilidade, aumento da mortalidade e redução da eclosão de J2 de *M. incognita*, além da redução do crescimento micelial e da germinação de microconídios de *Fol 3*.

**Palavras-chave:** Fitonematoides. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3. Supressividade.

## ABSTRACT

Fungi that cause vascular wilt (*Fusarium oxysporum*) and the phytonematodes (*Meloidogyne* spp.) they are among the pathogens of importance to Brazil and global agriculture, impacting the productivity of most agricultural crops of economic or subsistence importance. The incorporation of organic waste amendments into the soil has several beneficial effects. They can act against pathogens through the release of toxic compounds produced during decomposition, and/or by stimulating of antagonistic soil microorganisms and inducing systemic resistance in plants. Thus, the present study aimed to evaluate the efficiency of yellow mealworm waste amendment (*Tenebrio molitor*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 and *Meloidogyne incognita* race 1. The effect of the aqueous extract was evaluated on mycelial growth and microconidia germination of *Fol 3*, and on the hatching, mobility, and mortality of J2 of *M. incognita*. Also, the effect of volatile compounds emitted by the waste on the mycelial growth of *Fol 3*, and on the hatching, mobility, and mortality of J2 of *M. incognita* was evaluated. The suppressiveness of the waste was evaluated against *Fol 3* and *M. incognita* in tomato plants. The lowest concentration of the aqueous extract (10%) reduced the germination of *Fol 3* microconidia by 84.32%. The mycelial growth of the fungus was increased with concentrations of the extract. The mobility of *M. incognita* J2 was reduced by 93.0% with the lowest extract concentration (10%). It also presented an efficiency of 79.8% on J2 mortality and reduced hatching by 86.3%. Regarding the volatile compounds emitted by the waste, the lowest concentration (1%) reduced the mycelial growth of *Fol 3* by 18.2%. The 1% concentration of waste reduced mobility by 90.9%, had a nematicidal effect of 85.5% and reduced J2 hatching by 97.3%. The 5% concentration of the waste reduced the external severity of Fusarium wilt in tomato by 17.8%, represented by AUDPC. The concentration increased photosynthesis (69.3%), water use efficiency (252.3%) and aerial and root biomass (328.5%). The greatest reduction in the J2 population in the soil (87.8%), galls (24.0%) and eggs + J2 (57.0%) in the tomato root system was presented by the concentration of 5% of the waste. An increase in aerial and root system biomass was observed with concentrations of waste, with a reduction in physiological damage. Tomato productivity increased by up to 163.1% with a concentration of 5% of the waste. This is the first study relating yellow mealworm waste and its suppressive effect against pathogens, *Fol 3* and *M. incognita*. The waste incubation into the soil provides a greater quantity of nutrients to plants, promoting their growth without causing phytotoxicity. The waste contains a microbiota, that can play several ecological roles for plant, and chitin, an important polymer in agriculture. Chitin oligomers and other toxic compounds, volatile or not, are involved in reducing mobility, increasing mortality and reducing J2 hatching of *M. incognita*, in addition to reducing mycelial growth and microconidia germination of *Fol 3*.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3. Phytonematodes. Suppressiveness.

## 1 INTRODUÇÃO

Entre os principais problemas envolvendo a sanidade das culturas, podem ser citados os de natureza biótica, capazes de desencadear diversas doenças. Os fungos causadores de murchas vasculares, principalmente espécies do complexo *Fusarium oxysporum* e os fitonematoides causadores de galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.), estão entre os patógenos de maior dano

às culturas agrícolas de importância econômica ou de subsistência em todo o mundo. Esses patógenos podem ainda inviabilizar o cultivo, em alguns casos, levando ao abandono da atividade em razão da alta infestação da área de plantio (LAZAROVA et al., 2021; SRINIVAS et al., 2019).

A existência de cultivares comerciais com resistência a *F. oxysporum* e a *Meloidogyne* spp. é limitada a algumas poucas espécies e apresenta alto custo para os agricultores. O uso contínuo de uma mesma cultivar resistente na área de produção pode selecionar na população dos patógenos raças específicas de fungos e biótipos dos fitonematoides a um determinado genótipo (GABRIEL et al., 2022; GONÇALVES et al., 2018; SILVA et al., 2019). A utilização da rotação de culturas, apesar de eficiente na redução de populações de *F. oxysporum* e de fitonematoides, é dificultada pela ampla gama de plantas hospedeiras de *Meloidogyne* spp. (CHITWOOD-BROWN et al., 2021; SIKANDAR et al., 2023) O cultivo de plantas antagonistas não tem produção de valor econômico, limitando a sua aplicação pelos agricultores. O controle químico, muitas vezes ineficiente para patógenos habitantes de solo, apresenta custo relativamente alto. Também, quando utilizado indiscriminadamente pode proporcionar o lixiviamento de substâncias tóxicas capazes de contaminar diversos organismos e lençóis freáticos (LAZAROVA et al., 2021).

A incorporação de adubos orgânicos ao solo manipula fatores biológicos, além de influenciar nas propriedades físicas e químicas, favorecendo assim vários caminhos para a supressividade do solo. Os efeitos benéficos da supressão do solo foram relatados em diferentes patossistemas através da incorporação de matéria orgânica ao solo. Estercos de animais, resíduos de culturas, turfa, lodo de esgoto, biocarvão, farinha de peixe, carne e ossos, cascas de camarão, conchas de moluscos e emulsão de peixe, entre outros, foram relatados (BONANOMI et al., 2007; BONANOMI et al., 2020; HECK et al., 2019). No entanto, a matéria orgânica pode induzir o solo a se tornar conducente, aumentando a incidência de doenças. Em estudos de revisão, Bonanomi et al. (2007) verificaram que o efeito da matéria orgânica é supressivo em 45% dos casos, não significativo em 35% e conducente em 20%.

O resíduo derivado da produção da larva de *Tenebrio molitor* oriundo das fezes intestinais, exoesqueleto e restos de ração é relatado como uma fonte de fertilizante orgânico para a agricultura (HOUBEN et al., 2020; HOUBEN et al., 2021; LIU et al., 2003). A aplicação direta desse resíduo sobre culturas agrícolas incrementa a biomassa de plantas, como de acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla*) (POVEDA et al., 2019), de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) (HOUBEN et al., 2021; WATSON et al., 2021), de cevada (*Hordeum vulgare* L.) (HOUBEN et al., 2020); de feijão-mungo (*Vigna radiata*) (LIU et al., 2003), além do cogumelo *Agrocybe*

*chaxingu* (ZENG et al., 2017). Apresenta-se ainda como potencial na indução de tolerância de plantas à salinidade, seca e alagamento (POVEDA et al., 2019).

Novas alternativas no controle de fitopatógenos devem explorar fontes naturais que ofereçam os mesmos ou melhores resultados frente aos convencionais, e que não apresentem efeitos colaterais ao homem e ao meio ambiente. Assim, o objetivo da presente tese foi avaliar a eficiência do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 e *Meloidogyne incognita* raça 1.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Obtenção do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor***

A obtenção do extrato aquoso deu-se através de uma amostra do resíduo, obtido conforme descrito no item 2.1 do capítulo anterior, que foi misturada com água destilada na proporção de 2:1 (água:resíduo, v/v) em frascos de Erlenmeyers de 250 mL. A suspensão foi homogeneizada e agitada a 120 rpm em mesa agitadora orbital TE-4200 (TECNAL<sup>®</sup>) à temperatura de 25 °C por uma hora, com descanso por 12 horas nos mesmos frascos a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado para frascos de reagente de vidro graduados de 100 mL através de uma camada tripla de gaze e, em seguida, através de papel filtro quantitativo JP41 (QUANTY<sup>®</sup>) de porosidade de aproximadamente 28 µm. Os filtrados do extrato aquoso foram acondicionados em um frasco de reagente de vidro graduado de 1000 mL, que foi armazenado em incubadora B.O.D. a 4 °C no escuro.

### **2.2 Obtenção e multiplicação do inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3**

O isolado de *Fol* raça 3 (nº 149) foi fornecido pela empresa Sakata Seed Sudamerica por meio de discos de cultura do fungo preservados pelo método de Castellani. Nesse método, o fungo foi cultivado em meio contendo ágar por tempo suficiente e que permitia a retirada de discos de cultura, que foram armazenados em frascos de vidro contendo água destilada esterilizada (ALFENAS e MAFIA, 2016). Para multiplicação do inóculo, discos do fungo (diâmetro = 0,5 cm) foram colocados em placas de meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). As placas foram incubadas em incubadora B.O.D. a 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas durante 7 dias.

### 2.3 Obtenção e multiplicação do inóculo de *Meloidogyne incognita* raça 1

A população de *M. incognita* raça 1 foi fornecida pela Embrapa Hortaliças, através de raízes de tomateiro cv. 'Santa Cruz Kada'. Para multiplicação do inóculo, mudas de jiloeiro (*Solanum aethiopicum* L.) foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 3 L, contendo uma mistura de solo/areia na proporção 2:1 (v/v). Após três dias do transplante, as plantas foram inoculadas com 5000 ovos de *M. incognita*, distribuídos em três orifícios de 2 cm de profundidade ao redor do colo da planta. Após 60 dias de cultivo, as raízes foram coletadas para extração de ovos segundo Boneti e Ferraz (1981), associado a Jenkins (1964). Para isso, as raízes foram lavadas cuidadosamente em água, cortadas em fragmentos de 1 a 2 cm e colocadas em liquidificador doméstico com solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % de cloro ativo, trituradas na menor rotação por 20 segundos. A suspensão foi vertida em uma peneira de 200 mesh (abertura de 0,075 mm) sobreposta a uma de 500 mesh (abertura de 0,025 mm) e o resíduo da última foi recolhido em um béquer com auxílio de uma pisseta com água. A suspensão obtida foi colocada em tubos da centrífuga, com adição de uma alíquota de 5 g de caulim, e centrifugados a uma rotação de 1750 rpm por 5 minutos. Decorrido o tempo, o sobrenadante foi descartado e acrescentou-se nos tubos uma solução de sacarose (454 g L<sup>-1</sup> de açúcar) por meio de jatos fortes para a ressuspensão do resíduo contido no fundo dos tubos. Foi feita uma segunda centrifugação na mesma rotação, porém por 1 minuto. Após esse tempo, o sobrenadante foi vertido em uma peneira de 500 mesh, onde os ovos dos nematoides ficaram retidos. Esses ovos foram recolhidos para um Becker e a suspensão obtida foi quantificada com o auxílio da câmara de contagem de Peters sob microscópio ótico (aumento de 100 vezes).

Após a contagem dos ovos, a suspensão foi colocada em câmara de eclosão para obtenção de juvenis de segundo estágio (J2). Essa câmara representa um ambiente escuro contendo água destilada e papel filtro, que retém os ovos. À medida que os J2 eclodem, eles atravessam a barreira de retenção e migram para a água. Como câmara de eclosão foi utilizado um funil escuro contendo uma presilha no final que impede o escape da suspensão. A câmara de eclosão foi incubada em incubadora B.O.D. a  $25 \pm 2$  °C no escuro. Após 6 horas, foi recolhida e eliminada uma pequena suspensão por causa da presença de nematoides de vida livre e juvenis de *M. incognita* em estádios avançados. Após 72 horas de incubação, a suspensão contendo os J2 foi recolhida para um Becker e quantificados em câmara de contagem de Peters sob microscópio ótico (aumento de 100 vezes).



#### **2.4 Efeito *in vitro* do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre o crescimento micelial e a germinação de microconídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3**

Para avaliar o efeito *in vitro* do extrato aquoso sobre o crescimento micelial de *Fol 3*, um disco do fungo (diâmetro = 0,5 cm), obtido conforme descrito no item 2.2, foi transferido para o centro da placa de Petri (90 mm de diâmetro) contendo meio BDA mais extrato aquoso, obtido conforme descrito no item 2.1, em diferentes concentrações. Antes, o meio mais as concentrações do extrato foram autoclavados a 120 °C durante 30 minutos. As concentrações do extrato aquoso utilizadas foram de 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 100% (v/v). Cada placa constituiu uma parcela experimental. As placas foram incubadas em incubadora B.O.D. a  $25 \pm 2$  °C com fotoperíodo de 12 horas. Os diâmetros das colônias foram medidos em duas direções da placa (diâmetros perpendiculares) com auxílio de uma régua graduada, após 8 dias de incubação, em que o primeiro tratamento tomou toda a placa. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com sete concentrações do extrato aquoso e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

Na avaliação do efeito *in vitro* do extrato aquoso sobre a germinação de microconídios de *Fol 3*, realizou-se a filtração e esterilização do extrato, obtido conforme descrito no item 2.1, usando uma membrana com poros de aproximadamente 0,22 µm (BIOFIL<sup>®</sup>). Uma suspensão de microconídios de 20 µL obtida por lavagem de placas com água destilada esterilizada ( $10^6$  microconídios mL<sup>-1</sup>) foi depositada em uma lâmina de vidro com 20 µL de extrato em concentração dupla. As concentrações finais do extrato aquoso foram de 0, 10, 20, 30, 40 e 50% (v/v). Cada lâmina constituiu uma parcela experimental. As lâminas foram incubadas em B.O.D. a  $25 \pm 2$  °C sob câmara úmida por 6 horas. Como câmara úmida foi utilizada uma caixa plástica Gerbox higienizada contendo algodão estéril embebido com água destilada esterilizada. A germinação foi interrompida pela adição de 10 µL de corante de azul de lactofenol em cada gota e 100 microconídios foram examinados sob microscópio ótico. O conídio com tubo germinativo com pelo menos o mesmo comprimento que o tamanho do conídio foi considerado germinado. Após a contagem da quantidade de conídios germinados e não germinados, calculou-se a porcentagem de germinação. A condução foi em delineamento inteiramente casualizado com seis concentrações do extrato aquoso e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

## **2.5 Efeito *in vitro* do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1**

O efeito *in vitro* do extrato aquoso sobre a mobilidade de J2 de *M. incognita* foi avaliado em tubos de ensaios de capacidade de 40 mL. Cada tubo recebeu 500 µL de suspensão aquosa contendo aproximadamente 50 J2, obtidos conforme descrito no item 2.3, mais 500 µL de extrato, obtido conforme descrito no item 2.1, em concentração dupla. As concentrações finais do extrato aquoso foram de 0, 10, 20, 30, 40 e 50% (v/v). Em seguida, os tubos foram incubados em incubadora B.O.D. a  $25 \pm 2$  °C no escuro. Um tubo de ensaio constituiu uma parcela experimental. A mobilidade foi avaliada nos períodos de 24, 48, 72 e 96 h após a aplicação dos tratamentos, com avaliação destrutiva para cada período. A suspensão de cada tubo foi retirada por meio de pipeta manual e transferida para câmara de contagem de Peters, em que quantificou-se J2 móveis e imóveis sob microscópio ótico. Ao final, determinou-se a porcentagem de mobilidade de J2. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com seis concentrações do extrato aquoso e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro

Também foi avaliada a mortalidade de J2 seguindo a mesma metodologia citada anteriormente. Todavia, antes da retirada da suspensão de cada tubo de ensaio para a câmara de contagem de Peters, foi adicionado em cada tubo 100 µL de solução aquosa de NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>, pH 10) para proceder à contagem dos J2. Aqueles nematoides que exibiram o corpo retorcido foram considerados vivos, e os que apresentaram o corpo reto e imóvel foram classificados como mortos (CHEN e DICKSON, 2000). Ao final, determinou-se a porcentagem de mortalidade de J2. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com seis concentrações do extrato aquoso e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

A avaliação do efeito *in vitro* do extrato aquoso sobre a eclosão de J2 de *M. incognita* foi realizado utilizando tubos de ensaio de 40 mL. Cada tubo recebeu uma suspensão aquosa de 1000 µL contendo aproximadamente 300 ovos, obtidos conforme descrito no item 2.3, mais 1000 µL de extrato, obtido conforme descrito no item 2.1, em concentração dupla. As concentrações finais do extrato aquoso foram de 0, 10, 20, 30, 40 e 50% (v/v). Em seguida, os tubos foram incubados em incubadora B.O.D. a  $25 \pm 2$  °C no escuro durante 10 dias. Um tubo de ensaio constituiu uma parcela experimental. Ao término do período, a suspensão de cada tubo foi retirada por meio de pipeta manual e transferida para câmara de contagem de Peters, em que quantificou-se o número de J2 eclodidos sob microscópio ótico. Ao final, determinou-

se a porcentagem de eclosão de J2. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com seis concentrações do extrato aquoso e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

### **2.6 Efeito *in vitro* de compostos voláteis do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3**

Para verificar o efeito de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre o crescimento micelial de *Fol* 3, um disco do fungo (diâmetro = 0,5 cm), obtido conforme descrito no item 2.2, foi transferido para o centro de uma parte da placa de Petri bipartida (90 mm de diâmetro) contendo meio BDA. Na outra parte da placa foram colocados 10 mL de solo contendo o resíduo, obtido conforme descrito no item 2.1 do capítulo anterior, previamente incorporado ao solo em diferentes concentrações. As concentrações do resíduo utilizadas foram de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 % (v/v). As placas foram vedadas com três camadas de filme plástico de parafina (PARAFILM®). Em seguida, as placas foram incubadas em incubadora B.O.D. a  $25 \pm 2$  °C com fotoperíodo de 12 horas. Placas não vedadas foram utilizadas como controle negativo. Cada placa de Petri bipartida constituiu uma parcela experimental. Os diâmetros das colônias foram medidos em duas direções da placa (diâmetros perpendiculares) através de uma régua graduada, após 5 dias de incubação, em que o primeiro tratamento tomou toda uma parte da placa. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com seis concentrações do resíduo e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

### **2.7 Efeito *in vitro* de compostos voláteis do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1**

O efeito *in vitro* de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre a mobilidade de J2 de *M. incognita* foi avaliado em tubos de ensaio de capacidade de 40 mL. Cada tubo foi preenchido com 30 mL de solo contendo o resíduo, obtido conforme descrito no item 2.1 do capítulo anterior, previamente incorporado ao solo em diferentes concentrações, 0, 1, 2, 3, 4 e 5 % (v/v). No centro de cada tubo foi aterrado até a metade um microtubo de 1,5 mL. Os tubos foram vedados com duas camadas de filme plástico de parafina (PARAFILM®). Em seguida, os tubos foram incubados em incubadora B.O.D. a  $25 \pm 2$  °C no escuro durante 20 dias. Tubos não vedados foram utilizados como controle negativo. Um tubo de ensaio contendo um microtubo constituiu uma parcela experimental. Aos 16, 17, 18 e 19 dias após a vedação dos

tubos, 1 mL de suspensão contendo 50 J2 de *M. incognita* foi injetada dentro do microtubo em cada tubo de ensaio com o auxílio de uma seringa. O orifício após a retirada da agulha da seringa foi rapidamente selado com uma camada de filme plástico de parafina (PARAFILM®). O microtubo contendo os J2 permaneceu exposto aos compostos voláteis por 96, 72, 48 e 24 horas, respectivamente, totalizando 20 dias após a vedação dos tubos. No final de cada período de exposição, o filme plástico de parafina foi removido e o microtubo retirado de cada tubo. Assim, a mobilidade de J2 foi avaliada nos períodos de 24, 48, 72 e 96 h de exposição aos compostos voláteis, com avaliação destrutiva para cada período. A suspensão de cada microtubo do tubo de ensaio foi retirada por meio de pipeta manual e transferida para câmara de contagem de Peters, em que quantificou-se J2 móveis e imóveis sob microscópio ótico. Ao final, determinou-se a porcentagem de mobilidade de J2. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com seis concentrações do resíduo e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

Também foi avaliada a mortalidade de J2 seguindo a mesma metodologia citada anteriormente. Todavia, antes da retirada da suspensão de cada microtubo do tubo de ensaio para a câmara de contagem de Peters, foi adicionado em cada microtubo 100 µL de solução aquosa de NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>, pH 10) para proceder à contagem dos J2. Aqueles nematoides que exibiram o corpo retorcido foram considerados vivos, e os que apresentaram o corpo reto e imóvel foram classificados como mortos (CHEN e DICKSON, 2000). Ao final, determinou-se a porcentagem de mortalidade de J2. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com seis concentrações do resíduo e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

A avaliação do efeito *in vitro* de compostos voláteis sobre a eclosão de J2 de *M. incognita* foi realizado utilizando tubos de ensaio de capacidade de 40 mL. Cada tubo foi preenchido com 30 mL de solo contendo o resíduo, obtido conforme descrito no item 2.1 do capítulo anterior, previamente incorporado ao solo em diferentes concentrações, 0, 1, 2, 3, 4 e 5 % (v/v). No centro de cada tubo foi aterrado até a metade um microtubo de 1,5 mL. Os tubos foram vedados com duas camadas de filme plástico de parafina (PARAFILM®). Em seguida, os tubos foram incubados em incubadora B.O.D. a 25 ± 2 °C no escuro durante 20 dias. Tubos não vedados foram utilizados como controle negativo. Um tubo de ensaio contendo um microtubo representou uma parcela experimental. Aos 10 dias após a vedação dos tubos, 1 mL de suspensão contendo 300 ovos de *M. incognita* foi injetada dentro do microtubo em cada tubo de ensaio com o auxílio de uma seringa. O orifício após a retirada da agulha da seringa foi rapidamente selado com uma camada de filme plástico de parafina (PARAFILM®). O

microtubo contendo os ovos permaneceu exposto aos compostos voláteis por 10 dias, totalizando 20 dias após a vedação dos tubos. No final, o filme plástico de parafina foi removido e o microtubo retirado de cada tubo. Assim, a eclosão de J2 foi avaliada no período de 10 dias de exposição aos compostos voláteis. A suspensão de cada microtubo do tubo de ensaio foi retirada por meio de pipeta manual e transferida para câmara de contagem de Peters, em que quantificou-se o número de J2 eclodidos sob microscópio ótico. Ao final, determinou-se a porcentagem de eclosão de J2. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com seis concentrações do resíduo e cinco repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

### **2.8 Supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em condições controladas**

Para o ensaio de supressividade do resíduo sobre *Fol* 3 utilizou-se solo natural não esterelizado, com coleta do solo abaixo da cobertura morta até uma profundidade de 20 cm. Uma amostra de solo homogênea foi retirada para análise físico-química inicial (argila = 437,6 g/kg, silte = 60,0 g/kg, areia = 502,4 g/kg, pH H<sub>2</sub>O = 5,5, P = 1,4 mg/dm<sup>3</sup>, K = 22,9 mg/dm<sup>3</sup>, Na = 4,7 mg/dm<sup>3</sup>, H+AL = 1,8 cmolc/dm<sup>3</sup>, Al = 0,03 cmolc/dm<sup>3</sup>, Ca = 0,3 cmolc/dm<sup>3</sup>, Mg = 0,1 cmolc/dm<sup>3</sup>, Fe = 15,6 mg/kg, Cu = 1,6 mg/kg, Mn = 1,5 mg/kg e Zn = 0,3 mg/kg).

O ensaio foi conduzido em vasos plásticos com capacidade para 2,8 L em casa de vegetação climatizada. A estrutura da casa de vegetação é composta por camada de filme plástico de polietileno de alta densidade, aditivado contra raios ultravioletas, com 50% de transmissão de luminosidade. O sistema de climatização é por sistema evaporativo de ar formado por um painel de celulose corrugada associado a uma motobomba responsável pelo recalque de água para a parte superior do painel, com exaustor posicionado na parede oposta à do painel de celulose. O acionamento do sistema de resfriamento foi baseado na temperatura do ar interno, ajustado manualmente ( $\geq 25$  °C) por meio de termostato localizado na parte central da estrutura interna.

O resíduo, obtido conforme descrito no item 2.1 do capítulo anterior, foi incorporado ao solo do vaso nas concentrações de 0, 1, 2, 3, 4 e 5% (v/v) e incubado durante 20 dias, período determinado de acordo com os resultados do capítulo anterior.

A umidade do solo nos vasos foi controlada de forma a alcançar 60% da capacidade de campo. Cada vaso contendo solo mais resíduo nas diferentes concentrações foi infestado com uma suspensão contendo 10<sup>6</sup> conídios de *Fol* 3, de forma uniforme em todo o vaso, no mesmo dia após a incorporação do resíduo ao solo. Para isso, cinco discos do fungo (diâmetro = 0,5

cm), obtidos conforme descrito no item 2.2, foram transferidos para Erlenmeyers de 500 mL contendo meio líquido batata dextrose (BD). Os Erlenmeyers foram colocados sob agitação a 120 rpm em mesa agitadora orbital TE-4200 (TECNAL®) à temperatura de 25 °C durante 7 dias no escuro. Após o término do período de incubação, foi retirada uma alíquota de cada Erlenmeyer para contagem de conídios em hemocitômetro, ajustando-se a suspensão na concentração de  $10^6$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ .

Antes do transplântio das mudas de tomate, incorporou-se 4 g/vaso de calcário “filler” (24% Ca; 11% Mg), com posterior adubação de plantio à lanço de 4,8 g/vaso da formulação 05-25-15 (N-P-K). A adubação de cobertura foi realizada por meio da aplicação à lanço de 1 g/vaso de ureia (45% N) dividida aos 20 e 40 dias após o transplântio das mudas. Mudas de tomate cv. ‘Santa Cruz Kada’ com aproximadamente 25 dias após a semeadura apresentando duas folhas verdadeiras foram transplântadas para cada vaso. O controle das plantas daninhas foi realizado manualmente, à medida que se observava o aparecimento dessas na fase de plântula. O controle de pragas e doenças durante o ciclo da cultura foi realizado de acordo com o monitoramento diário da casa de vegetação, utilizando produtos recomendados para a cultura do tomateiro (Anexo 1). Foi utilizado um protetor de plástico nas parcelas, de modo a evitar o contato dos produtos com o solo por respingos da pulverização.

As avaliações de altura de plantas (cm) foram realizadas utilizando trena graduada, medindo-se da base do colo da planta até ao ápice, aos 20, 40, 60 e 75 dias após o transplântio (DAT). Os primeiros sintomas externos da murcha-de-Fusarium ocorreram aos 38 DAT. Após, a severidade externa da doença foi avaliada semanalmente até aos 75 DAT utilizando uma escola de notas adaptada de Tokeshi e Galli (1966): 1= planta sem sintoma; 2= planta com amarelecimento até a segunda folha; 3= planta com amarelecimento até a terceira folha; 4= planta com murcha e sem amarelecimento; 5= planta com murcha e amarelecimento; e 6= planta morta. Ao final, calculou-se a área abaixo da curva do progresso da doença.

Aos 50 DAT foram realizadas avaliações de trocas gasosas da planta utilizando-se de um analisador de gases no infravermelho (IRGA LI-6800, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA). As variáveis analisadas foram:  $E$  = Taxa transpiratória ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ );  $A$  = Taxa fotossintética ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ );  $EUA$  = Eficiência do uso da água ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} / \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); e  $g_{sw}$  = Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Ao final, calculou-se a relação  $C_i/C_a$ , em que  $C_i$  é a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) e  $C_a$  a concentração externa de  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ). As medições foram realizadas no terceiro par de folhas totalmente expandidas a partir do ápice da planta. Para essas medições foi utilizado uma densidade constante de fluxo de fótons de  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , umidade relativa de 50% e concentração de  $\text{CO}_2$  de  $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ . A temperatura

na câmara do analisador foi mantida em 25 °C. Todas as avaliações foram realizadas com dia ensolarado e sem nebulosidade, no período de 8 às 11 horas da manhã.

Aos 75 DAT determinou-se o diâmetro de caule (mm) por meio de paquímetro digital. A seguir, a parte aérea das plantas foi retirada cuidadosamente e o escurecimento vascular foi avaliado, sendo os caules cortados longitudinalmente com auxílio de um estilete e a descoloração interna avaliada utilizando uma escala de notas adaptada de Tokeshi e Galli (1966): 1= planta sem escurecimento vascular; 2= planta com escurecimento vascular até a altura da primeira folha; 3= planta com escurecimento vascular até a segunda folha; 4= planta com escurecimento vascular até a terceira folha; 5= planta com escurecimento vascular até a metade do comprimento do caule; e 6= planta com escurecimento vascular até próximo do ponteiro.

Em seguida, a parte aérea das plantas e o sistema radicular foram pesados para determinar o peso de parte aérea fresca (g) e o peso de raiz fresca (g), respectivamente, em balança digital. Após, foram acondicionados em sacos de papel e levados para a estufa de secagem com circulação de ar forçado a 65 °C por 7 dias, período em que no final o peso tornou-se constante. Logo após, realizou-se a pesagem em balança digital para determinar o peso de parte aérea seca (g) e o peso de raiz seca (g). Posteriormente, a parte aérea seca foi armazenada em sacos de papel em ambiente fresco e arejado para análise foliar de nutrientes.

Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com seis concentrações do resíduo e dez repetições. O ensaio experimental foi repetido uma vez, seguindo os mesmos procedimentos e etapas do primeiro.

## **2.9 Supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em condições de campo**

O ensaio de supressividade do resíduo a *M. incognita* em tomateiro foi realizado em dois momentos distintos, tanto em relação ao período, quanto em relação à área. O primeiro foi realizado em uma área do campo experimental infestado anteriormente de forma artificial com o nematoide entre novembro de 2021 a janeiro de 2022 (primavera-verão). Já o segundo ensaio ocorreu em outra área do campo experimental também infestado anteriormente de forma artificial com o nematoide entre junho e setembro de 2022 (outono-inverno).

Para ambos, as plantas foram cultivadas em manilhas de concreto armado (1,1 m de diâmetro x 0,06 m de altura; ~ 1 m<sup>2</sup>) contendo solo. Antes do plantio realizou-se uma amostragem geral da área, coletando-se solo na profundidade de 0-20 cm para análise físico-química inicial do solo (solo do ensaio primavera-verão: argila = 341 g/kg, silte = 114 g/kg,

areia = 545 g/kg, pH H<sub>2</sub>O = 6,4, P = 144,1 mg/dm<sup>3</sup>, K = 198,2 mg/dm<sup>3</sup>, Na = 8,1 mg/dm<sup>3</sup>, H+AL = 2,3 cmolc/dm<sup>3</sup>, Al = 0,03 cmolc/dm<sup>3</sup>, Ca = 3,1 cmolc/dm<sup>3</sup>, Mg = 1,1 cmolc/dm<sup>3</sup>, Fe = 18,2 mg/kg, Cu = 12,9 mg/kg, Mn = 6,1 mg/kg e Zn = 2,0 mg/kg) ; (solo do ensaio outono-inverno: argila = 337 g/kg, silte = 110 g/kg, areia = 553 g/kg, pH H<sub>2</sub>O = 7,5, P = 40,4 mg/dm<sup>3</sup>, K = 50,5 mg/dm<sup>3</sup>, Na = 17,4 mg/dm<sup>3</sup>, H+AL = 0,0 cmolc/dm<sup>3</sup>, Al = 0,04 cmolc/dm<sup>3</sup>, Ca = 5,2 cmolc/dm<sup>3</sup>, Mg = 0,3 cmolc/dm<sup>3</sup>, Fe = 5,4 mg/kg, Cu = 0,8 mg/kg, Mn = 1,9 mg/kg e Zn = 2,2 mg/kg).

Amostras de solo de 0-20 cm de profundidade foram coletadas para avaliar a densidade populacional inicial (J2) de *M. incognita*, as quais foram padronizadas para 150 cm<sup>3</sup> por parcela. A extração dos fitonematoides do solo foi realizada pelo método de flotação centrífuga em solução de sacarose desenvolvido por Jenkins (1964). Nesse, a amostra de 150 cm<sup>3</sup> foi acondicionada em um Becker de 4 L. Após, adicionou-se 2 L de água e a suspensão de solo foi homogeneizada manualmente, de modo a desfazer todos os torrões de solo. Após a homogeneização, esperou-se 20 segundos para que resíduos mais grossos de solo se depositassem no fundo do Becker. A suspensão de solo e fitonematoides da fase superior da mistura foi vertida sobre uma peneira de 200 mesh, acoplada a uma de 400 mesh, com o cuidado devido para não verter o solo depositado no fundo do Becker. Com o auxílio de uma pisseta, coletou-se com jatos e água o material coletado na peneira de 400 mesh. Esse foi recolhido em um tubo de centrífuga, o qual foi centrifugado por 5 minutos a 1.750 rpm. Após esse procedimento, o sobrenadante foi eliminado. O precipitado foi ressuspenso em solução de sacarose (45,4% de açúcar refinado) e centrifugado novamente por 1 minuto a 1.750 rpm. O líquido sobrenadante foi vertido em peneira de 400 mesh, sendo recolhidos os fitonematoides em Becker de 50 mL com auxílio de uma pisseta. A suspensão foi homogeneizada e uma alíquota da suspensão foi adicionada em câmara de contagem de Peters para determinação do número de juvenis de segundo estágio (J2) em microscópio ótico (aumento de 100 vezes). Assim, determinou-se a quantidade de J2 em 150 cm<sup>3</sup> de solo.

O resíduo, obtido conforme descrito no item 2.1 do capítulo anterior, foi incorporado na profundidade do solo de 0-20 cm nas concentrações de 0, 1, 2, 3, 4 e 5% (v/v) e incubado durante 20 dias, período determinado conforme os resultados do capítulo anterior. A irrigação foi realizada manualmente, sendo utilizada uma lâmina semanal de 30 mm. A umidade do solo para todas as parcelas foi controlada de forma a alcançar 60% da capacidade de campo.

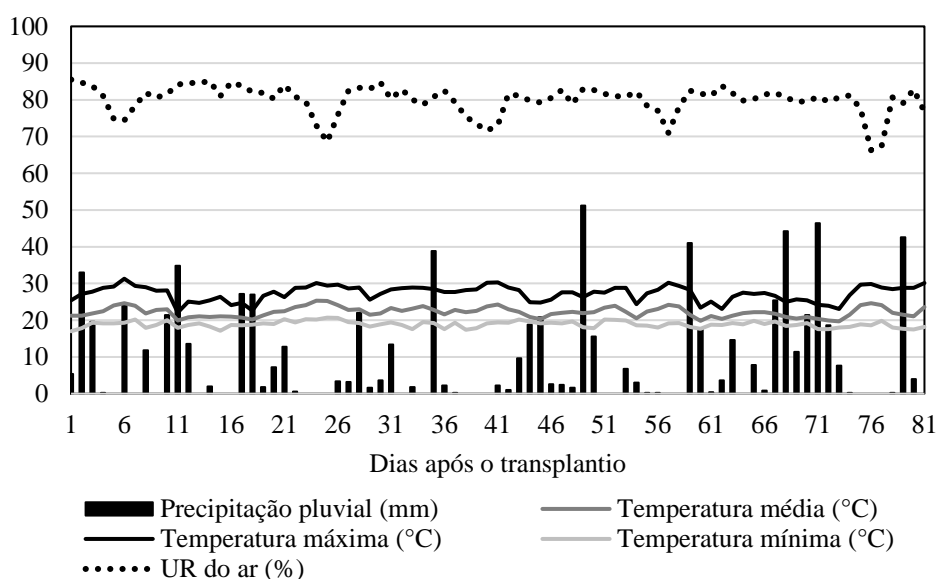
Antes do transplante das mudas de tomate, incorporou-se 200 g/manilha de calcário “filler” (24% Ca; 11% Mg), com posterior adubação de plantio à lanço de 200 g/manilha da formulação 04-30-10 (N-P-K). A adubação de cobertura foi realizada por meio da aplicação à



lanço de 45 g/manilha de ureia (45% N) dividida aos 20, 40 e 60 dias após o transplântio das mudas. Mudanças de tomate cv. ‘Santa Cruz Kada’ com aproximadamente 25 dias após a semeadura apresentando duas folhas verdadeiras foram transplântadas em espaçamento de 0,5 m, totalizando 2 plantas por parcela. O controle das plantas daninhas foi realizado manualmente, à medida que se observava o aparecimento dessas na fase de plântula. O controle de pragas e doenças durante o ciclo da cultura foi realizado de acordo com o monitoramento diário da área, com observações no campo, utilizando produtos recomendados para a cultura do tomateiro (Anexos 2 e 4). Foi utilizado um protetor de plástico nas parcelas, de modo a evitar o contato dos produtos com o solo por respingos da pulverização.

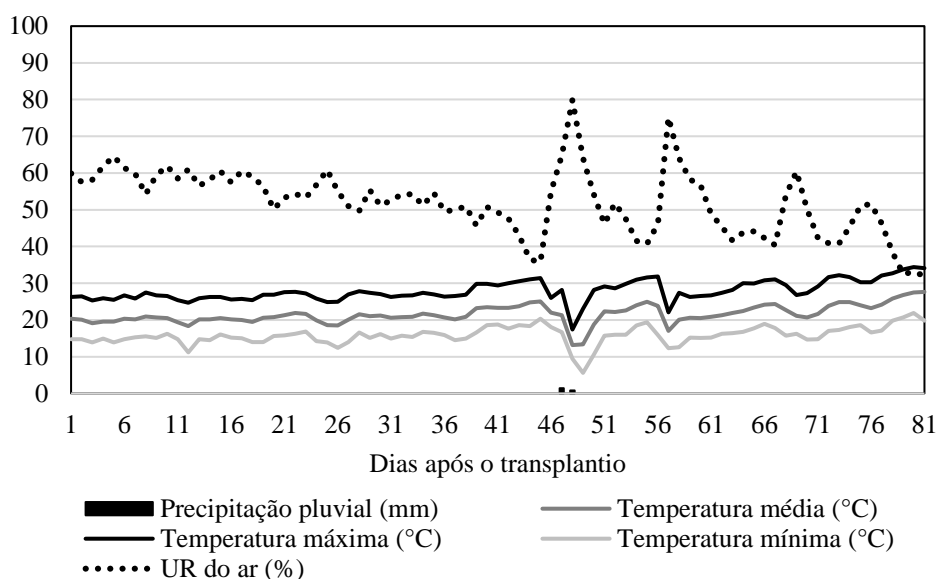
Ao longo do ciclo do tomate para ambos os ensaios, os dados meteorológicos foram monitorados (Anexos 3 e 5; Figuras 1 e 2) por meio de estação meteorológica (AGROSYSTEM®) presente na área do Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos (Latitude 17°48'50,4" S; Longitude 49°12'16,5" W; Altitude 902 m). Os dados podem ser obtidos pelo seguinte link: <https://meteorologia-ifgoiano-mhos.webnode.com/meteorologia/>.

**Figura 1.** Médias diárias de precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa do ar (%), e temperaturas média, máxima e mínima (°C), observadas ao longo do período de realização do 1º ensaio (primavera-verão) de supressividade a *Meloidogyne incognita*.



Fonte: Do autor (2023)

**Figura 2.** Médias diárias de precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa do ar (%), e temperaturas média, máxima e mínima (°C), observadas ao longo do período de realização do 2º ensaio (outono-inverno) de supressividade a *Meloidogyne incognita*.



Fonte: Do autor (2023)

As avaliações de altura de plantas (cm) foram realizadas utilizando uma trena graduada, medindo-se da base do colo da planta até ao ápice, aos 25, 50 e 80 dias após o transplante das mudas (DAT).

Foram realizadas avaliações de trocas gasosas da planta utilizando-se de um analisador de gases no infravermelho (IRGA LI-6800, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA). Para observar possíveis diferenças durante o ciclo da cultura, no ensaio primavera-verão realizou-se aos 80 DAT, e no ensaio outono-inverno aos 50 DAT. As variáveis analisadas foram:  $E$  = Taxa transpiratória ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ );  $A$  = Taxa fotossintética ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ );  $EUA$  = Eficiência do uso da água ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} / \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); e  $g_{sw}$  = Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Ao final, calculou-se a relação  $C_i/C_a$ , em que  $C_i$  é a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) e  $C_a$  a concentração externa de  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ). As medições foram realizadas no quinto par de folhas totalmente expandidas a partir do ápice da planta. Para essas medições foi utilizado uma densidade constante de fluxo de fótons de  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , umidade relativa de 50% e concentração de  $\text{CO}_2$  de  $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ . A temperatura na câmara do analisador foi mantida em  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Todas as avaliações foram realizadas com dia ensolarado e sem nebulosidade, no período de 8 às 11 horas da manhã.

As plantas foram conduzidas até a colheita, aos 80 DAT, em que colheu-se todos os frutos dos quatro primeiros cachos de cada planta. Após, determinou-se o número de frutos por

planta, a produtividade média por planta (kg) e o peso médio de frutos (g). Antes de retirar as plantas, determinou-se o diâmetro de caule (mm) por meio de paquímetro digital. A seguir, a parte aérea das plantas foi retirada cuidadosamente e pesada para determinar o peso de parte aérea fresca (g) em balança digital. Em seguida, foi acondicionada em sacos de papel e levada para a estufa de secagem com circulação de ar forçado a 65 °C por 7 dias, período em que no final o peso tornou-se constante. Logo após, realizou-se a pesagem em balança digital para determinar o peso de parte aérea seca (g), que posteriormente foi armazenada em sacos de papel em ambiente fresco e arejado para posterior análise foliar de nutrientes.

O sistema radicular das plantas foi lavado e pesado em balança digital para determinar o peso de raiz fresca (g). Após, avaliou-se as deformações provocadas pelos fitonematoides nas raízes (galhas). Assim, determinou-se o índice de galhas por sistema radicular seguindo a metodologia descrita por Taylor e Sasser (1978), em que: 0= ausência de galhas no sistema radicular; 1= 1 a 2 galhas; 2= 3 a 10 galhas; 3= 11 a 30 galhas; 4= 31 a 100 galhas; e 5= mais de 100 galhas por sistema radicular. Em seguida, as raízes foram utilizadas para quantificação do número de ovos + J2 por grama de raiz. Para tal, utilizou-se a técnica de Boneti e Ferraz (1981) associada à técnica de Jenkins (1964), conforme descrito no item 2.3. Também, avaliou-se a quantidade de J2 no solo remanescente das manilhas. Para tal, amostras foram coletadas nas manilhas em região próximo do local de onde foram retiradas as plantas, até 20 cm de profundidade. Após, as amostras por manilhas foram homogeneizadas e padronizadas para 150 cm<sup>3</sup>. A extração foi realizada pelo método de flotação centrífuga em solução de sacarose desenvolvido por Jenkins (1964), descrito anteriormente neste item.

O experimento seguiu o delineamento em blocos ao acaso com seis tratamentos e quatro repetições. A parcela experimental foi constituída de uma manilha (~1 m<sup>2</sup>) contendo 2 plantas (~20 mil plantas/ha).

## **2.10 Análise estatística**

Os resultados foram submetidos aos pressupostos da análise de variância utilizando o teste de Shapiro-Wilk para normalidade dos erros e o teste de Bartlett para homogeneidade das variâncias. Os dados foram submetidos à significância pelo teste F em 5% de probabilidade. Os dados significativos foram ajustados ao modelo de regressão. As análises foram implementadas no software estatístico R versão 4.0.3 (R CORE TEAM, 2023).

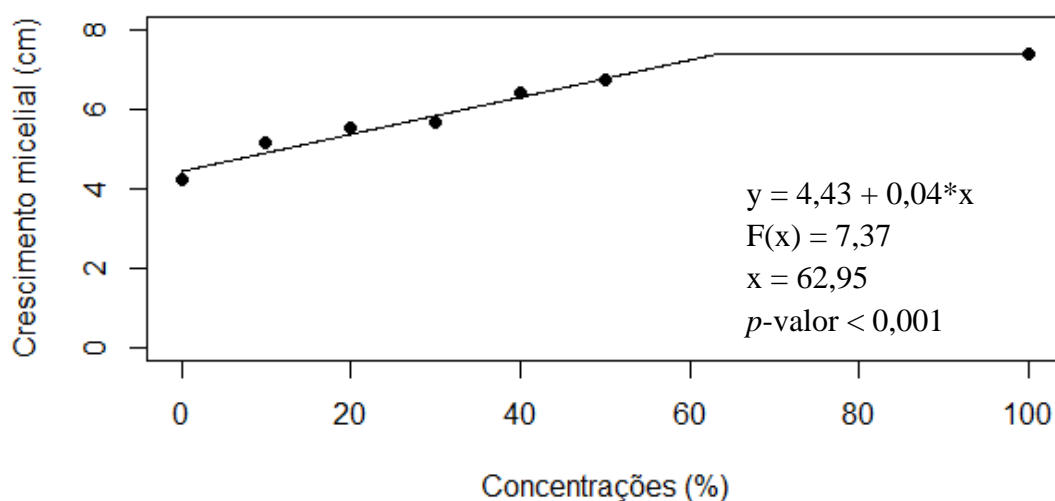
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Efeito *in vitro* do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre o crescimento micelial e a germinação de microconídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3

Na avaliação *in vitro* do extrato aquoso sobre o crescimento micelial de *Fol 3* observou-se diferença estatística entre as concentrações ( $p$ -valor  $< 0,001$ ; coeficiente de variação = 5,84%). Todavia, essa diferença entre as concentrações foi traduzida em efeitos de incremento e não sobre a inibição do crescimento micelial do fungo.

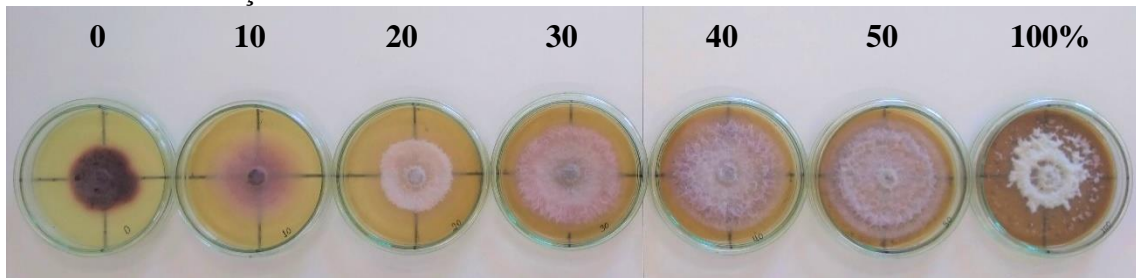
O incremento sobre o crescimento micelial de *Fol 3* pelas concentrações do extrato aquoso foi representado pela *Linear Response Plateau*. Após obter a função *Plateau*, nota-se que, a partir de determinado ponto ( $F(x)$ ) não há mais efeito de concentração dependente ( $x$ ), ou seja, com o aumento das concentrações não há progresso do crescimento micelial do fungo, com tendência à estabilização. A concentração máxima do extrato aquoso foi de 62,95% e o crescimento micelial máximo estável foi de 7,37 cm (Figuras 3 e 4).

**Figura 3.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em função das concentrações crescentes do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 8 dias de incubação.  $X$  = concentração (%) máxima do extrato aquoso sobre o crescimento micelial de *Fol 3* após 8 dias de incubação;  $F(x)$  = crescimento micelial (cm) máximo estável de *Fol 3*.



Fonte: Do autor (2023)

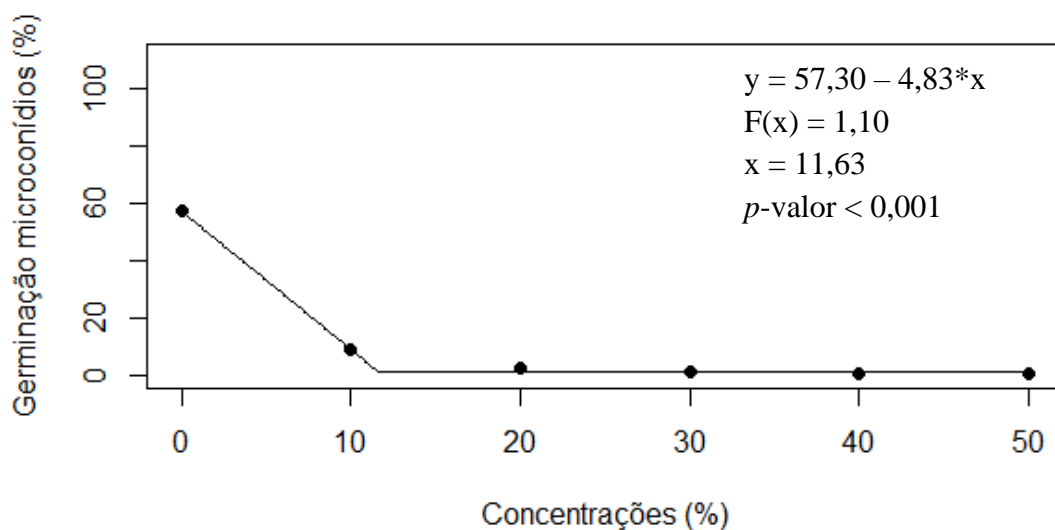
**Figura 4.** Crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em função das concentrações crescentes do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 8 dias de incubação.



Fonte: Do autor (2023)

Na avaliação *in vitro* do extrato aquoso sobre a germinação de microconídios de *Fol 3* foi possível observar diferença estatística entre as concentrações ( $p$ -valor < 0,001; coeficiente de variação = 13,3%). A germinação foi reduzida drasticamente em 84,32% pela menor concentração do extrato (10%). A germinação de microconídios de *Fol 3* pelas concentrações do extrato aquoso foi representada pela *Linear Response Plateau*. Após obter a função *Plateau*, nota-se que, com o aumento das concentrações do extrato não há mais germinação de microconídios do fungo, com tendência à estabilização. A concentração máxima do extrato aquoso foi de 11,63%, e a taxa de germinação máxima estável foi de 1,1% (Figura 5).

**Figura 5.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da germinação de microconídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em função das concentrações crescentes do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 6 horas de incubação. X= concentração (%) máxima estável do extrato aquoso sobre a germinação de microconídios de *Fol 3* após 6 horas de incubação; F(x) = germinação (%) máxima estável de *Fol 3*.



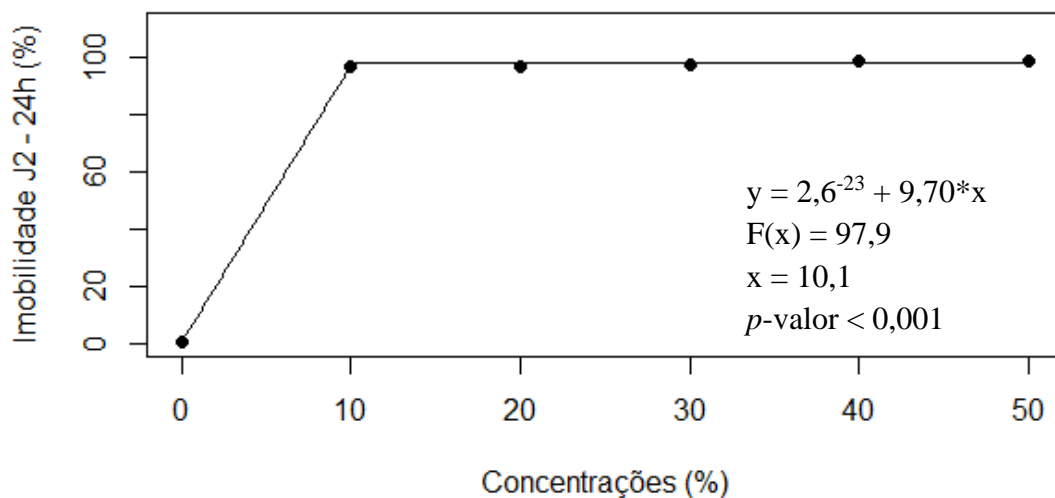
Fonte: Do autor (2023)

### 3.2 Efeito *in vitro* do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1

Na avaliação *in vitro* do extrato aquoso sobre a mobilidade de J2 de *M. incognita*, as concentrações avaliadas diferiram estatisticamente entre si para todos os períodos de avaliação (24, 48, 72 e 96 horas;  $p$ -valor < 0,001; coeficiente de variação = 2,26; 0,44; 0,50; 0,92, respectivamente).

Na concentração de 10% do extrato foi possível observar um efeito nematostático drástico de até 93,0% em relação ao controle para o período de 24 horas de incubação. A imobilidade de J2 de *M. incognita* pelas concentrações do extrato aquoso foi representada pela *Linear Response Plateau*. Após obter a função *Plateau*, nota-se que, com o aumento das concentrações não há mais redução da mobilidade de J2 do fitonematoide, com tendência à estabilização. A concentração máxima do extrato aquoso no período de 24 horas de incubação foi de 10,1%, e a taxa de imobilidade máxima estável foi de 97,9%. Nos períodos de 48, 72 e 96 horas de incubação, a concentração máxima do extrato aquoso permaneceu entre 10,07 a 10,1%, e a taxa de imobilidade entre 99,7 a 100% (Figura 6).

**Figura 6.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da mobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função das concentrações crescentes do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 24 horas de incubação. X= concentração (%) máxima estável do extrato aquoso sobre a imobilidade de J2 de *M. incognita* após 24 horas de incubação; F(x) = imobilidade (%) máxima estável de *M. incognita*.

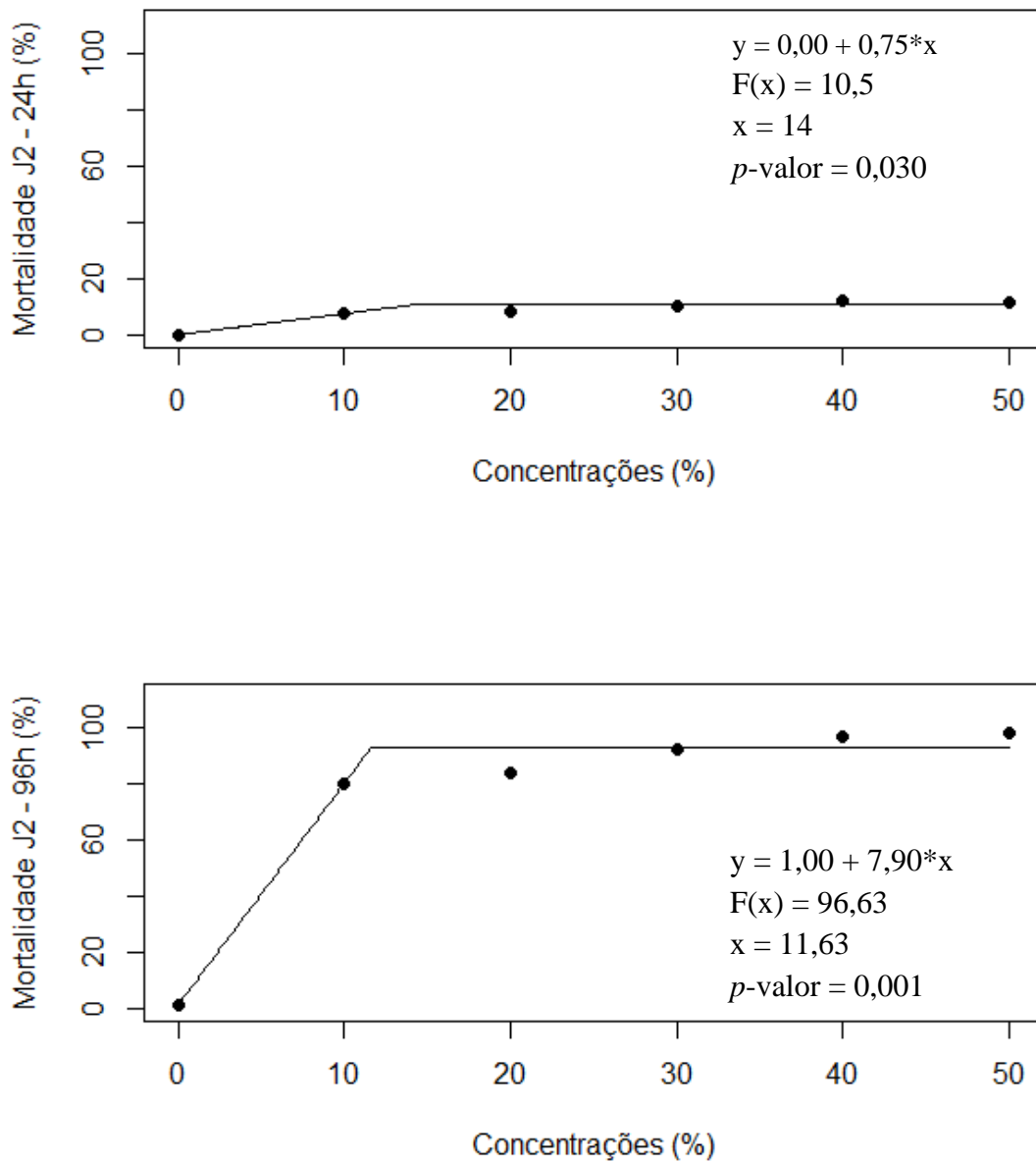


Na avaliação *in vitro* do extrato aquoso sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita*, houve diferença estatística para as concentrações para todos os períodos de avaliação (24, 48, 72 e 96 horas de incubação;  $p$ -valor < 0,001; coeficiente de variação = 10,58; 8,96; 9,56; 4,04, respectivamente). Para as avaliações com 24 e 96 horas de incubação, a mortalidade de J2 de *M. incognita* pelas concentrações do extrato aquoso foi representada pela *Linear Response Plateau* (Figura 7). Já para as avaliações com 48 e 72 horas de incubação, os dados apresentaram comportamento linear crescente (Figura 8).

Com 24 horas de incubação as concentrações do extrato aquoso não apresentaram considerada mortalidade em relação ao controle. Após obter a função *Plateau*, nota-se que, com o aumento das concentrações não há mortalidade de J2 do fitonematoide, com tendência à estabilização. A concentração máxima do extrato aquoso no período de 24 horas de incubação foi de 14,0%, e a taxa de mortalidade máxima estável foi de 10,5%. Já para o período de 96 horas de incubação foi possível observar para a concentração de 10% do extrato aquoso eficiência na mortalidade de J2 de até 79,8% em relação ao controle. A concentração máxima do extrato foi de 11,63% e a taxa de mortalidade estável de 92,63%.

Nos períodos de 48 e 72 horas, a mortalidade de J2 aumentou com as crescentes concentrações crescentes do extrato aquoso. Na concentração mínima do extrato de 10% foi possível obter eficiência de 41,0 e 43,0 % em relação ao controle para 48 e 72 horas de incubação, respectivamente.

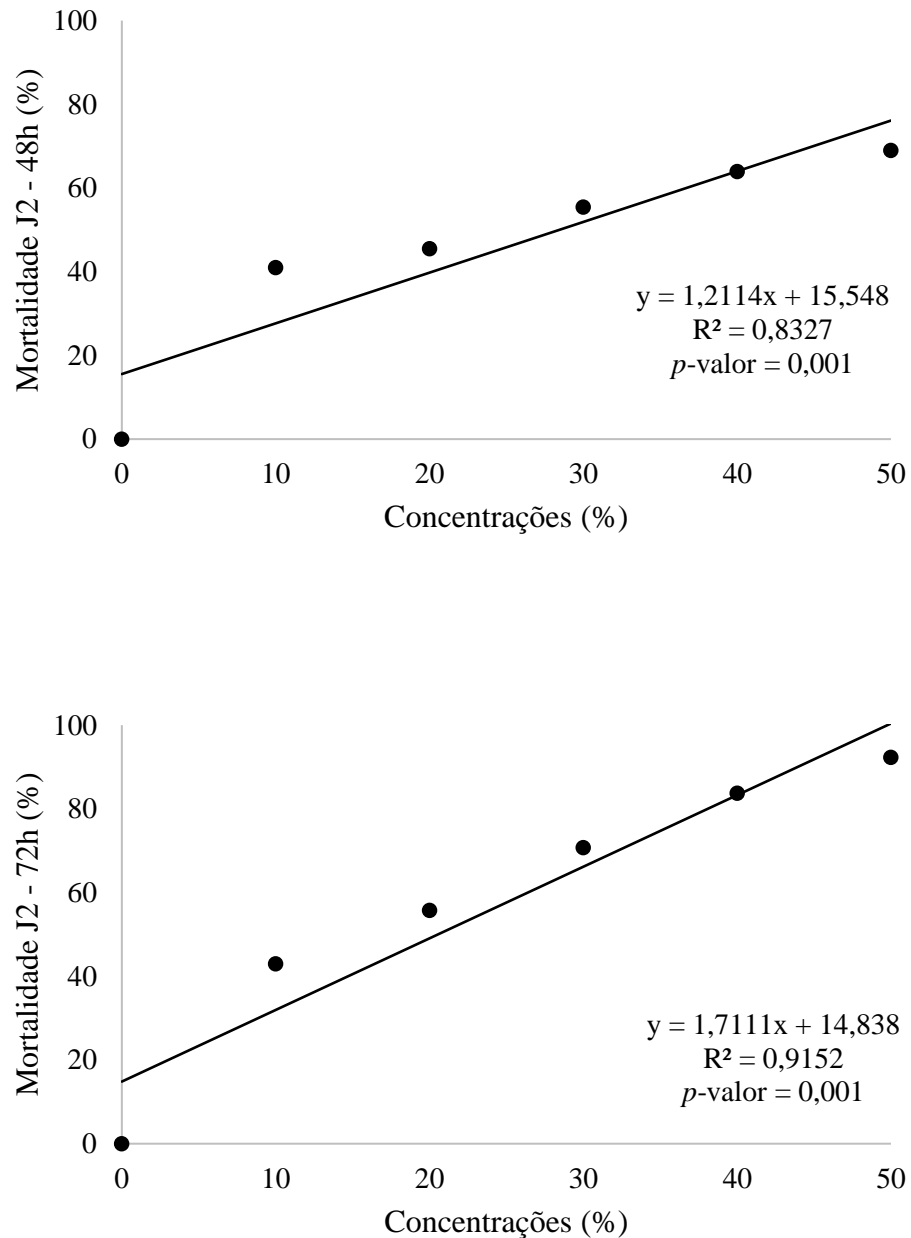
**Figura 7.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função das concentrações crescentes do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 24 e 96 horas de incubação. X= concentração (%) máxima estável do extrato aquoso sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita* após 96 horas de incubação; F(x) = mortalidade (%) máxima estável de J2 de *M. incognita*.



Fonte: Do autor (2023)



**Figura 8.** Avaliação da mortalidade *in vitro* de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função das concentrações crescentes do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 48 e 72 horas de incubação.

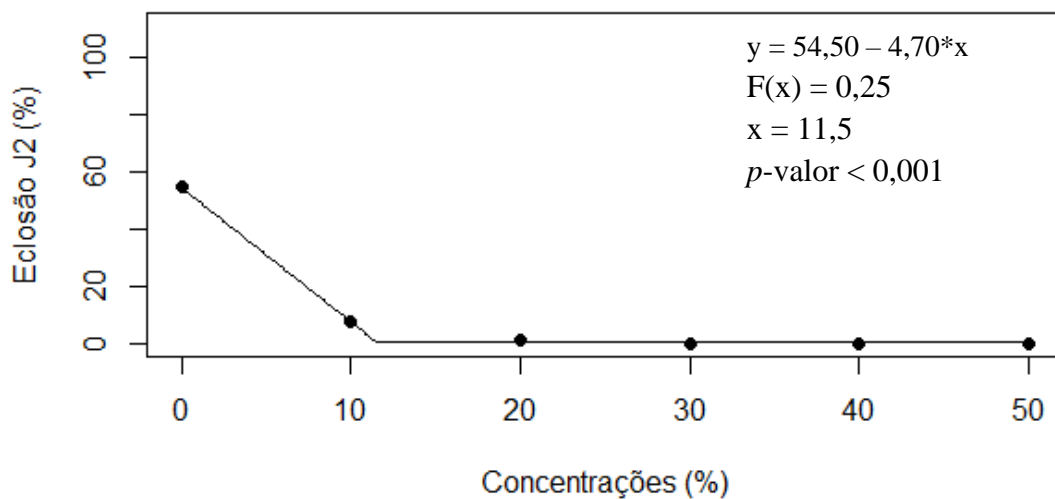


Fonte: Do autor (2023)

Na avaliação *in vitro* do extrato aquoso sobre a eclosão de J2 de *M. incognita*, as concentrações avaliadas diferiram estatisticamente entre si ( $p\text{-valor} < 0,001$ ; coeficiente de variação = 8,49%). A taxa de eclosão foi reduzida drasticamente na concentração de 10% do extrato, com redução de até 86,23% em relação ao controle. A eclosão de J2 de *M. incognita* pelas concentrações do extrato aquoso foi representada pela *Linear Response Plateau*. Após

obtida a função *Plateau*, nota-se que, a partir do aumento das concentrações do extrato não há mais eclosão de J2 do fitonematoide, com tendência à estabilização. A concentração máxima do extrato aquoso foi de 11,54% e a taxa de eclosão máxima estável foi de 0,25% (Figura 9).

**Figura 9.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função das concentrações crescentes do extrato aquoso do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 10 dias de incubação. X= concentração (%) máxima estável do extrato aquoso sobre a eclosão de J2 de *M. incognita* após 10 dias de incubação; F(x) = eclosão (%) máxima estável de J2 de *M. incognita*.



Fonte: Do autor (2023)

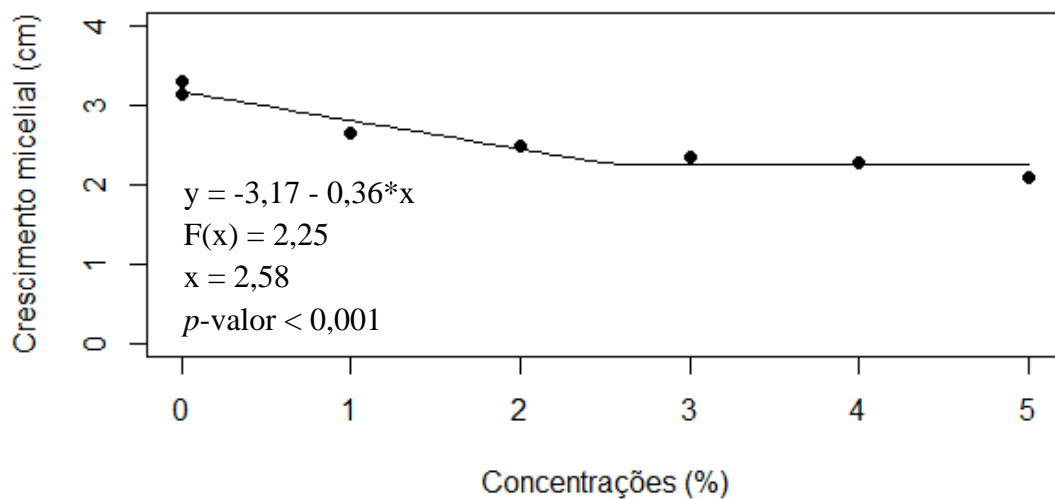
### 3.3 Efeito *in vitro* de compostos voláteis do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3

Na avaliação *in vitro* de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre o crescimento micelial de *Fol 3* observou-se diferença estatística entre as concentrações ( $p$ -valor < 0,001; coeficiente de variação = 3,88%). Essa diferença foi traduzida em efeitos de inibição do crescimento micelial do fungo. Tal efeito ocorreu após a formação da câmara de gás no interior da placa de Petri após sua vedação, ou seja, a emissão de compostos voláteis do resíduo foi tóxica a *Fol 3*. Vale ressaltar que o controle sem vedação não se diferenciou do controle com vedação, ou seja, houve semelhante crescimento micelial do fungo.

Na maior concentração do resíduo de 5% a inibição do crescimento micelial de *Fol 3* foi reduzida em 36,4% em relação ao controle. O crescimento micelial de *Fol 3* pelas

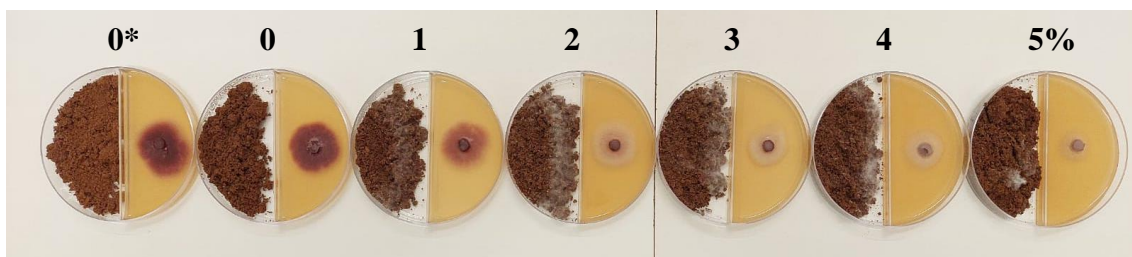
concentrações do resíduo foi representada pela *Linear Response Plateau*. Após obter a função *Plateau*, nota-se que, com o aumento das concentrações do resíduo não há mais crescimento micelial do fungo, com tendência à estabilização. A concentração máxima do resíduo foi de 2,58%, e o crescimento micelial máximo estável foi de 2,25 cm (Figuras 10 e 11).

**Figura 10.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em função de compostos voláteis emitidos pelas concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 5 dias de exposição. X = concentração (%) máxima estável de compostos voláteis sobre o crescimento micelial de *Fol* 3 após 5 dias de exposição; F(x) = crescimento micelial (cm) máximo estável de *Fol* 3.



Fonte: Do autor (2023)

**Figura 11.** Crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em função de compostos voláteis emitidos pelas concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 5 dias de exposição. 0\* = controle sem vedação.



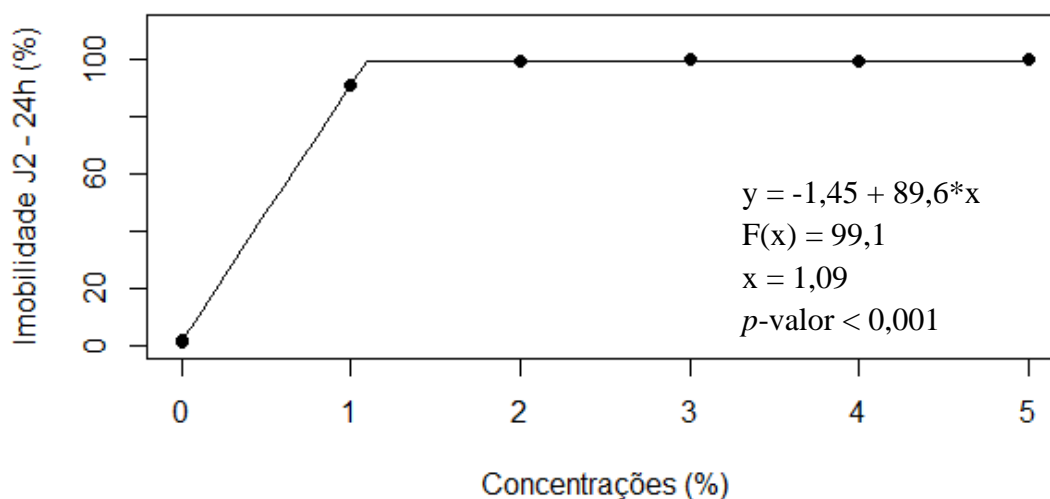
Fonte: Do autor (2023)

### 3.4 Efeito *in vitro* de compostos voláteis do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre a mobilidade, a mortalidade e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1

Na avaliação *in vitro* de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre a mobilidade de J2 de *M. incognita*, as concentrações avaliadas diferiram estatisticamente entre si para todos os períodos de avaliação (24, 48, 72 e 96 horas;  $p$ -valor  $< 0,001$ ; coeficiente de variação = 2,07; 1,56; 1,22; 2,27, respectivamente).

Na concentração de 1% do resíduo incorporado ao solo foi possível observar um efeito nematostático drástico de até 90,9% em relação ao controle para o período de 24 horas de exposição. A mobilidade de J2 de *M. incognita* pelas concentrações do resíduo foi representada pela *Linear Response Plateau*. Após obter a função *Plateau*, nota-se que, com o aumento das concentrações não há mais mobilidade de J2 do fitonematoide, com tendência à estabilização. A concentração máxima do resíduo no período de 24 horas de exposição foi de 1,09% e a taxa de imobilidade máxima estável foi de 99,1%. Nos períodos de 48, 72 e 96 horas de incubação, a concentração máxima do resíduo permaneceu entre 1,00 a 1,01% e a taxa de imobilidade máxima entre 98,9 a 99,2%, respectivamente (Figura 12).

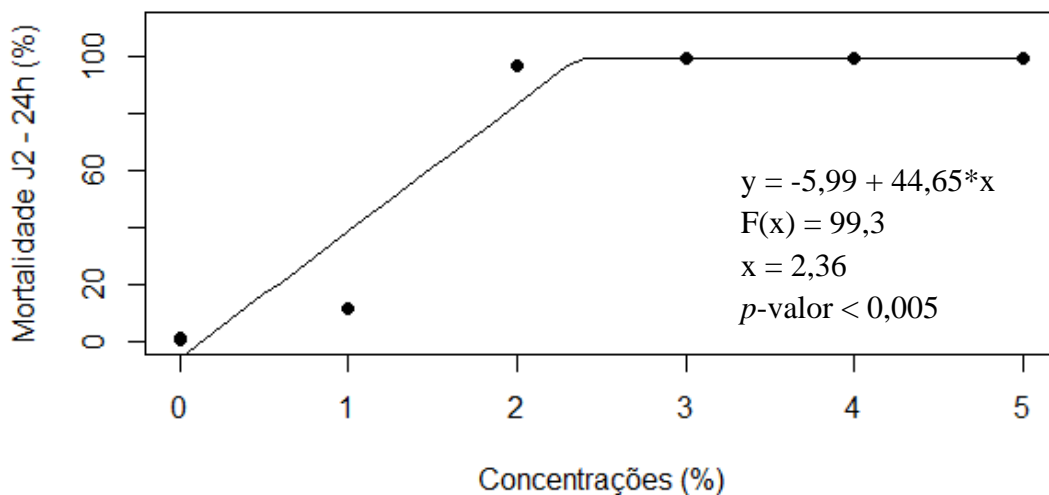
**Figura 12.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da mobilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função de compostos voláteis emitidos pelas concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 24 horas de exposição. X= concentração (%) máxima estável do resíduo sobre a imobilidade de J2 de *M. incognita* após 24 horas de exposição; F(x) = imobilidade (%) máxima estável de J2 de *M. incognita*.



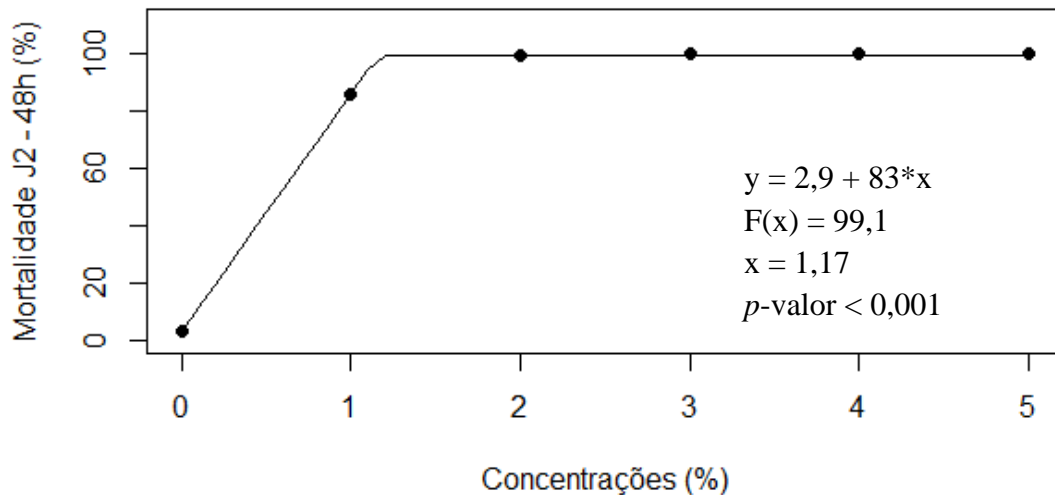
Na avaliação *in vitro* de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita*, houve diferença estatística para as concentrações em todos os períodos de avaliação (24, 48, 72 e 96 horas;  $p$ -valor  $< 0,001$ ; coeficiente de variação = 3,03; 1,51; 1,19; 1,29, respectivamente). Na concentração de 2% do resíduo incorporado ao solo observou-se um efeito nematicida drástico de até 96,8% em relação ao controle para o período de 24 horas de exposição. Já na concentração de 1% do resíduo foi possível observar um efeito nematicida de até 85,5% em relação ao controle para o período de 48 horas de exposição.

Para ambos os períodos de exposição, 24 e 48 horas, a mortalidade de J2 de *M. incognita* pelas concentrações do resíduo foi representada pela *Linear Response Plateau* (Figuras 13 e 14). Após obter a função *Plateau*, nota-se que, com o aumento das concentrações do resíduo não há mortalidade de J2 do fitonematoide, com tendência à estabilização. A concentração máxima do resíduo no período de 24 horas de exposição foi de 2,36%, e a taxa de mortalidade máxima estável foi de 99,3%. Já para o período de 48 horas de exposição, a concentração máxima do resíduo foi de 1,17% e a taxa de mortalidade estável de 99,1%. Nos períodos de 72 e 96 horas, a concentração máxima do resíduo permaneceu entre 1,00 a 1,01%, e a taxa de mortalidade máxima entre 99,5 a 100%.

**Figura 13.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função de compostos voláteis emitidos pelas concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 24 horas de exposição. X= concentração (%) máxima estável do resíduo sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita* após 24 horas de exposição; F(x) = mortalidade (%) máxima estável de J2 de *M. incognita*.



**Figura 14.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função de compostos voláteis emitidos pelas concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 48 horas de exposição. X= concentração (%) máxima estável do resíduo sobre a mortalidade de J2 de *M. incognita* após 48 horas de exposição aos compostos voláteis; F(x) = mortalidade (%) máxima estável de J2 de *M. incognita*.

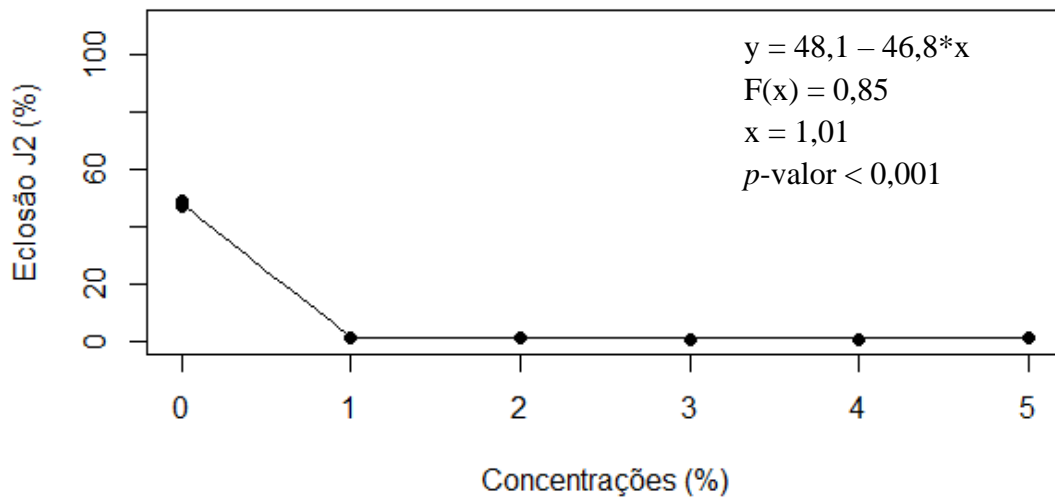


Fonte: Do autor (2023)

Na avaliação *in vitro* de compostos voláteis emitidos pelo resíduo sobre a eclosão de J2 de *M. incognita*, as concentrações avaliadas diferiram estatisticamente entre si ( $p$ -valor < 0,001; coeficiente de variação = 7,48%).

A taxa de eclosão foi reduzida drasticamente na concentração de 1% do resíduo, com 97,3% de redução em relação ao controle. A eclosão de J2 de *M. incognita* pelas concentrações do resíduo foi representada pela *Linear Response Plateau*. Após obtida a função *Plateau*, nota-se que, a partir do aumento das concentrações não há mais eclosão de J2 do fitonematoide, com tendência à estabilização. A concentração máxima do resíduo foi de 1,0% e a taxa de eclosão máxima estável foi de 0,85% (Figura 15).

**Figura 15.** *Linear Response Plateau* para a avaliação *in vitro* da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* raça 1 em função de compostos voláteis emitidos pelas concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* após 10 dias de exposição. X= concentração (%) máxima estável do resíduo sobre a eclosão de J2 de *M. incognita* após 10 dias de exposição; F(x) = eclosão (%) máxima estável de J2 de *M. incognita*.



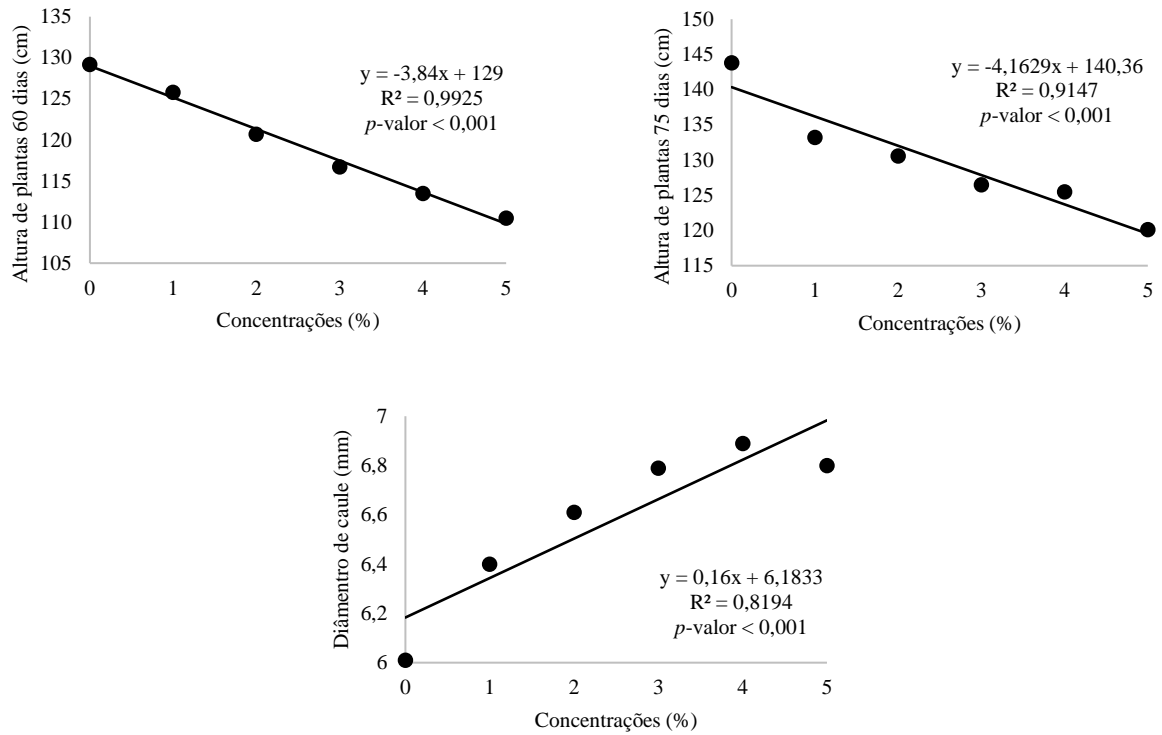
Fonte: Do autor (2023)

### 3.5 Supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Fusarium oxysporum* f. *sp. lycopersici* raça 3 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em condições controladas

Para altura de plantas aos 20 e 40 dias após o transplântio das mudas (DAT) não houve diferença estatística entre os tratamentos ( $p$ -valor = 0,702 e 0,987; coeficiente de variação = 9,88 e 7,48%, respectivamente). Apenas aos 60 e 75 DAT os tratamentos apresentaram significância para a variável altura de plantas ( $p$ -valor < 0,001; coeficiente de variação = 6,03 e 7,43%, respectivamente). Houve redução de crescimento vegetal pelas concentrações crescentes do resíduo em relação ao controle aos 60 e 75 DAT, com comportamento linear decrescente dos dados (Figuras 16, 17 e 18).

Para diâmetro de caule houve significância entre os tratamentos ( $p$ -valor < 0,001; coeficiente de variação = 6,03%), e todas as concentrações do resíduo propiciaram maior crescimento em relação ao controle, com comportamento linear crescente para os dados (Figura 16).

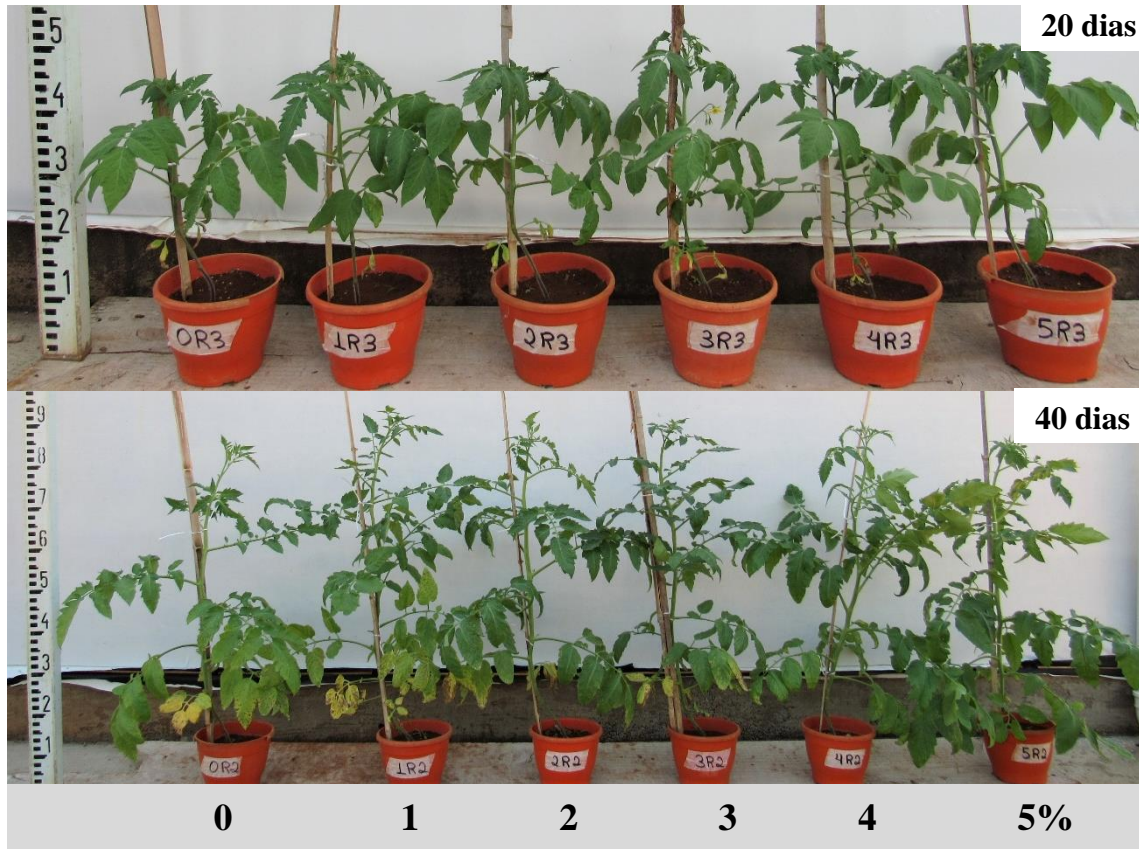
**Figura 16.** Avaliação da altura de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) aos 60 e 75 dias após o transplantio, e diâmetro de caule em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3.



Fonte: Do autor (2023)

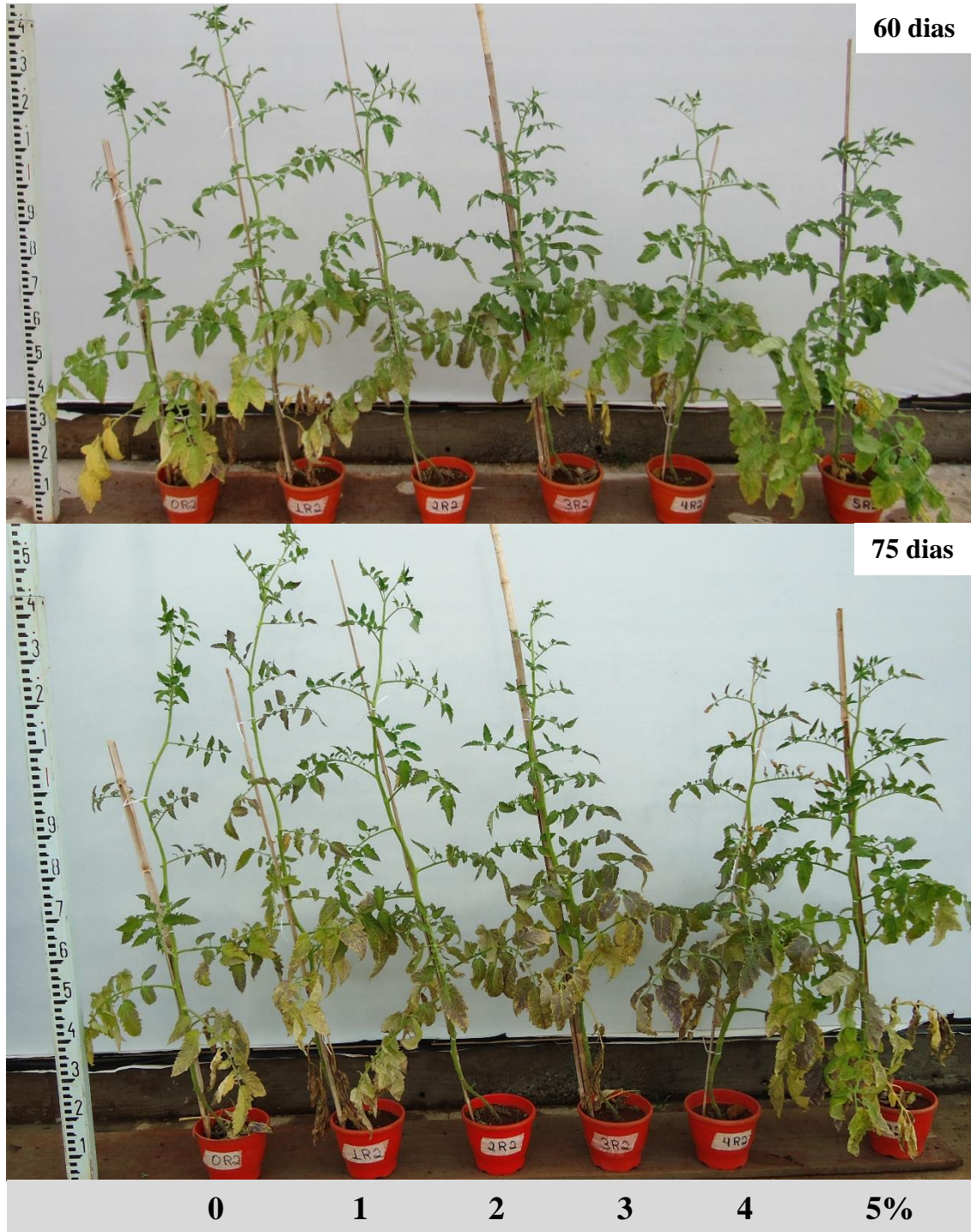


**Figura 17.** Altura de plantas aos 20 e 40 dias após o transplante em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3.



Fonte: Do autor (2023)

**Figura 18.** Altura de plantas aos 60 e 75 dias após o transplante em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3.



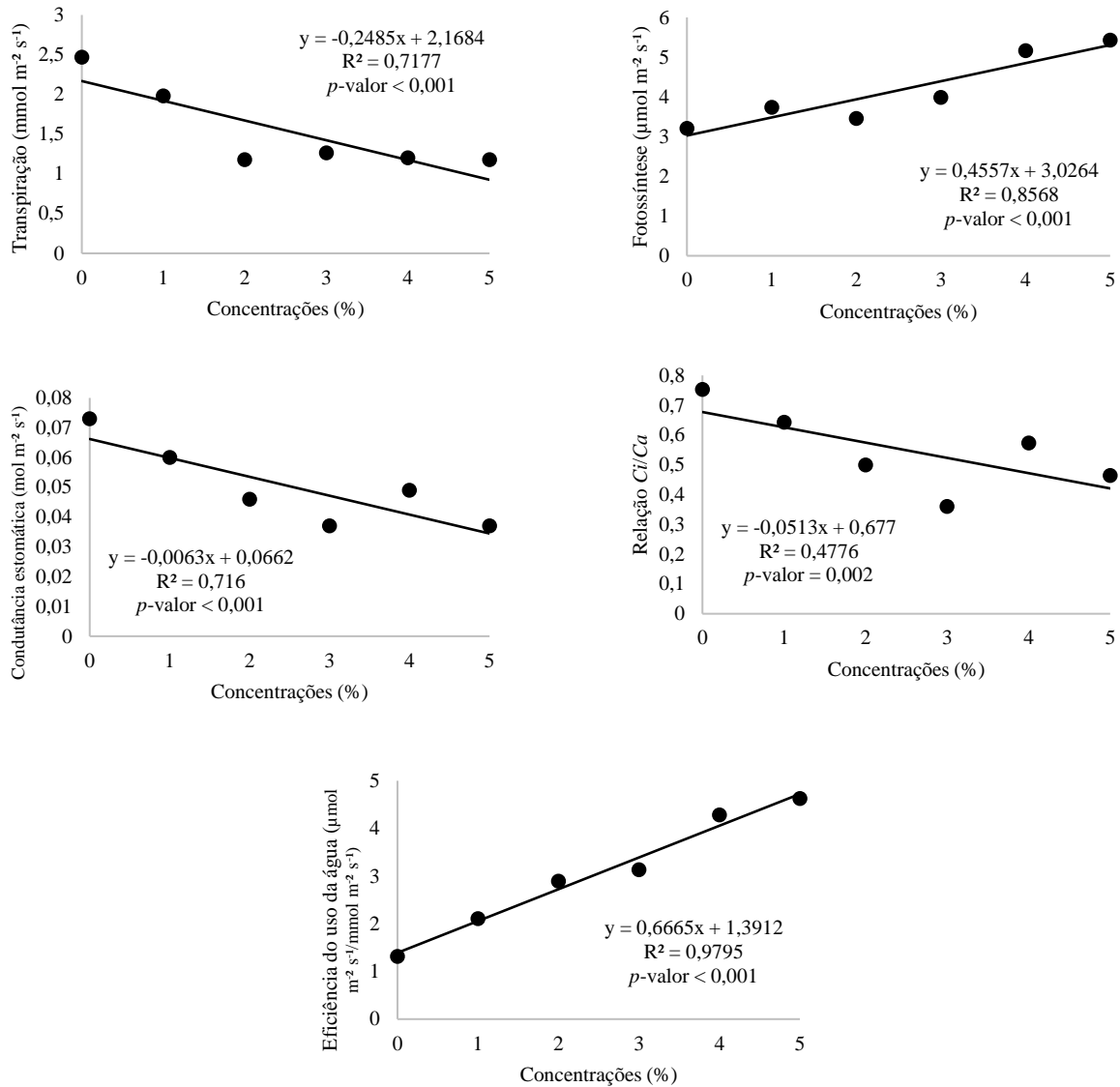
Fonte: Do autor (2023)

Para as variáveis de trocas gasosas da planta houve diferença estatística entre os tratamentos para transpiração ( $p$ -valor  $< 0,001$  ; coeficiente de variação = 29,51%), fotossíntese ( $p$ -valor = 0,012 ; coeficiente de variação = 25,03%), eficiência do uso da água ( $p$ -valor  $< 0,001$  ; coeficiente de variação = 16,91%), condutância estomática ( $p$ -valor = 0,003 ; coeficiente de variação = 27,78%) e relação entre a concentração interna ( $C_i$ ) e externa ( $C_a$ ) de  $\text{CO}_2$  ( $p$ -valor = 0,002 ; coeficiente de variação = 24,68%).

Os dados de trocas gasosas da planta apresentaram comportamento linear (Figura 19). A taxa transpiratória das plantas foi inversamente proporcional à taxa fotossintética, ou seja, a transpiração diminuiu e a fotossíntese aumentou com as concentrações crescentes do resíduo. A concentração de 5% do resíduo promoveu um aumento de 69,3% sobre a fotossíntese em relação ao controle.

A eficiência do uso da água foi diretamente proporcional com o aumento das concentrações do resíduo, com destaque para a concentração de 5%, que foi 252,3% mais eficiente em relação ao controle. Todavia, as concentrações crescentes do resíduo influenciaram inversamente sobre a condutância estomática e a relação entre a concentração interna ( $C_i$ ) e externa ( $C_a$ ) de  $\text{CO}_2$ .

**Figura 19.** Avaliação de transpiração, fotossíntese, condutância estomática, relação entre a concentração interna ( $C_i$ ) e externa ( $C_a$ ) de  $\text{CO}_2$  e eficiência do uso da água em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3.



Fonte: Do autor (2023)

Para as variáveis vegetativas houve efeito significativo entre os tratamentos para peso de parte aérea fresca e seca, e peso de raiz fresca e seca ( $p$ -valor < 0,001 e coeficiente de variação = 13,56; 11,58; 7,47; 4,59%, respectivamente). Todas as concentrações do resíduo propiciaram maior desenvolvimento das plantas em relação ao controle, com comportamento linear dos dados (Figuras 20 e 21). A concentração de 5% do resíduo propiciou os maiores valores de biomassa aérea e radicular em relação ao controle, com até 328,5% de incremento.

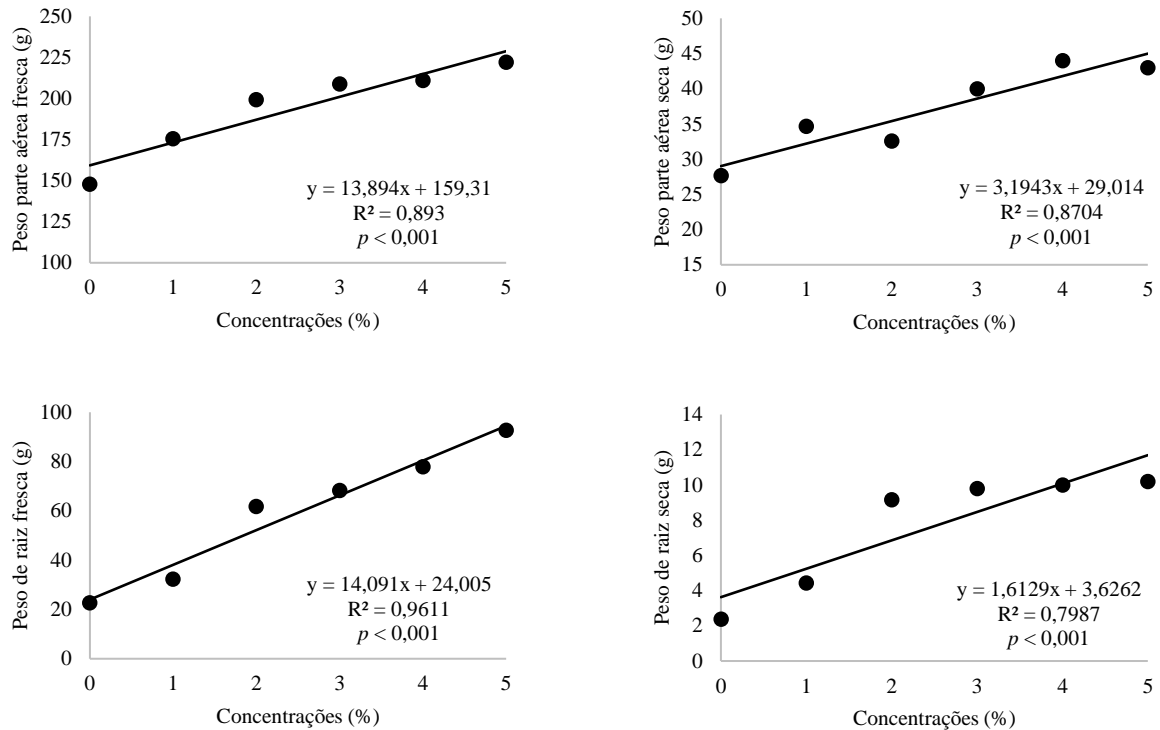
Na tabela 1 são expressos os resultados da análise nutricional foliar dos tratamentos, em que é possível observar que o acúmulo de manganês (Mn) é diretamente proporcional às concentrações crescentes do resíduo. Também, é possível observar um acúmulo de sódio (Na) e ferro (Fe) similar a uma curva quadrática.

**Tabela 1.** Resultado da análise nutricional foliar dos tratamentos estudados no ensaio de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).

<b>Concentrações</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Al</b>	<b>Na</b>
%	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg
0	2,6	13,4	14,0	4,0	0,13	0,37
1	2,1	12,0	14,8	4,2	0,12	0,40
2	2,0	13,0	14,0	3,9	0,15	0,44
3	2,0	14,2	14,8	4,5	0,14	0,47
4	2,1	16,5	16,1	4,9	0,18	0,54
5	2,1	14,4	14,4	4,4	0,10	0,47
			<b>Fe</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>
			mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
0			156	1,01	64,9	34,2
1			165	4,05	102	49,1
2			210	1,51	166	50,9
3			201	1,30	241	43,1
4			229	0,80	333	46,3
5			185	1,0	332	47,0

Fonte: Do autor (2023)

**Figura 20.** Avaliação de peso de parte aérea fresca e seca, e peso de raiz fresca e seca em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3.



Fonte: Do autor (2023)

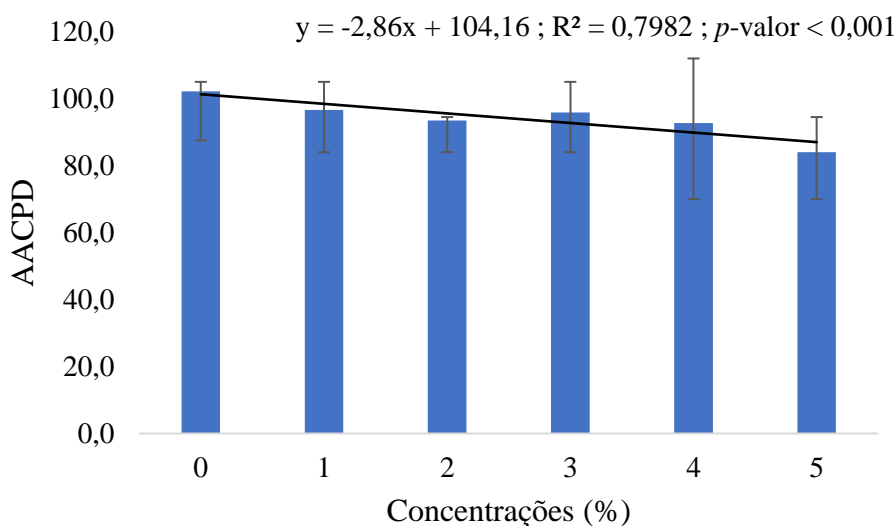
**Figura 21.** Sistema radicular de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3.



Fonte: Do autor (2023)

Quando analisada a severidade interna, os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si ( $p$ -valor = 0,909 ; coeficiente de variação = 28,81%). Todavia, para a severidade externa ( $p$ -valor < 0,001 ; coeficiente de variação = 9,68%), representada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), todas as concentrações do resíduo reduziram a murcha-de-Fusarium no tomateiro em relação ao controle. Os dados da AACPD foram representados por uma resposta linear (Figura 22). A concentração de 5% do resíduo apresentou a maior eficácia de redução da severidade externa da doença, com 17,8% em relação ao controle.

**Figura 22.** Área abaixo da curva de progresso da murcha-de-Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3) em função da incorporação das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* ao solo em cultivo de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).



Fonte: Do autor (2023)

### 3.6 Supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* sobre *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em condições de campo

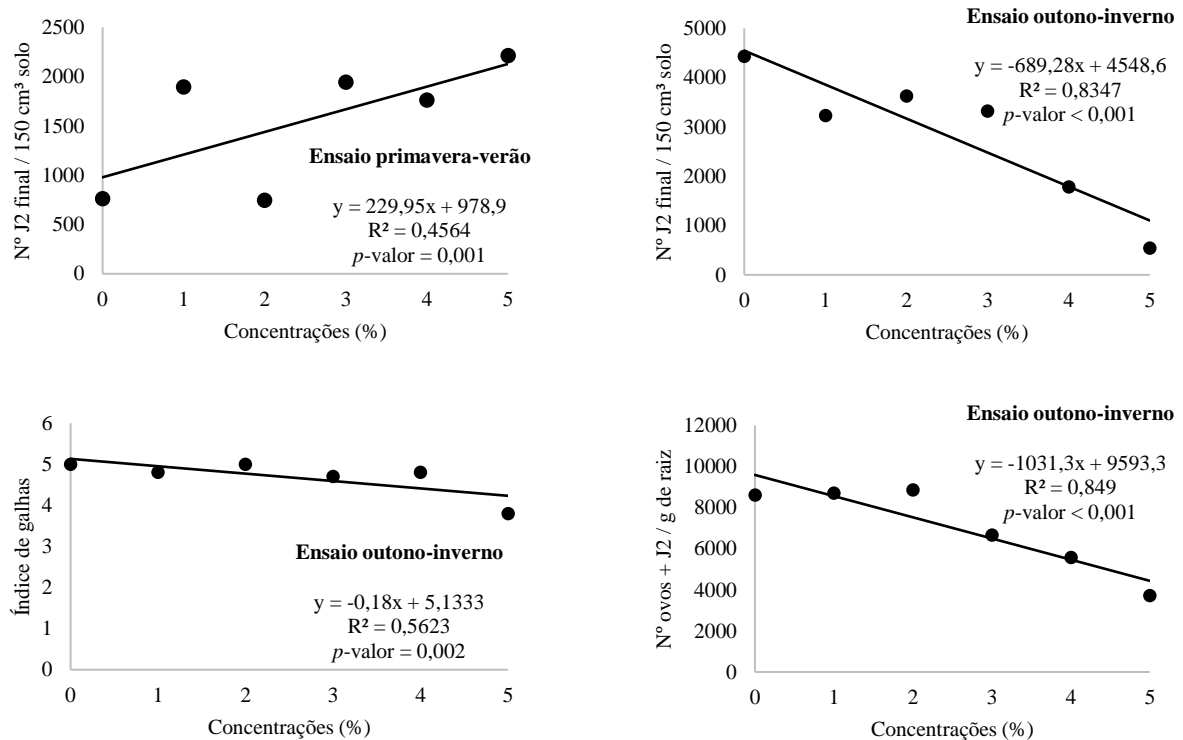
Na avaliação de J2 inicial de *M. incognita* presente nas áreas dos experimentos não houve diferença estatística entre os tratamentos (ensaio primavera-verão: média = 48 J2/150cm<sup>3</sup> solo;  $p$ -valor = 0,367 e coeficiente de variação = 26,95% ; ensaio outono-inverno: média = 382 J2/150cm<sup>3</sup> solo,  $p$ -valor = 0,494 e coeficiente de variação = 26,80% ), o que pode considerar-se homogeneidade da população inicial no solo nas manilhas para os tratamentos.

Ao término dos experimentos, aos 80 dias após o transplântio das mudas (DAT), foi possível observar diferença estatística para as concentrações do resíduo para a população final de J2 no solo (ensaio primavera-verão:  $p$ -valor = 0,001 e coeficiente de variação = 31,73% ;

ensaio outono-inverno:  $p$ -valor  $< 0,001$  e coeficiente de variação = 25,87% ). Em ambos os ensaios, a população final de J2 aumentou para todos os tratamentos em relação à população inicial. A população final de *M. incognita* no solo foi representada por uma curva linear crescente no ensaio primavera-verão e uma curva linear decrescente no ensaio outono-inverno (Figura 23). No ensaio outono-inverno a concentração de 5% apresentou a maior redução da população de J2 no solo, com 87,8% em relação ao controle.

Quando analisada a população de *M. incognita* nas raízes, os tratamentos diferiram estatisticamente entre si para o índice de galhas e para o número de ovos+J2 por grama de raiz somente no ensaio outono-inverno (ensaio primavera-verão:  $p$ -valor = 0,136 e 0,131 ; coeficiente de variação = 11,78 e 35,05 %, respectivamente ; ensaio outono-inverno:  $p$ -valor = 0,006 e 0,002 ; coeficiente de variação = 8,09 e 23,69%, respectivamente). Todavia, todas as concentrações do resíduo reduziram a população do fitonematoide na raiz em relação ao controle para ambos os ensaios. A concentração de 5% apresentou a maior redução de galhas (24%) e do número de ovos+J2 por grama de raiz (57%) em relação ao controle.

**Figura 23.** Avaliação do número de juvenis de segundo estágio (J2) final no solo, índice de galhas e número de ovos + juvenis de segundo estágio (J2) por grama de raiz em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



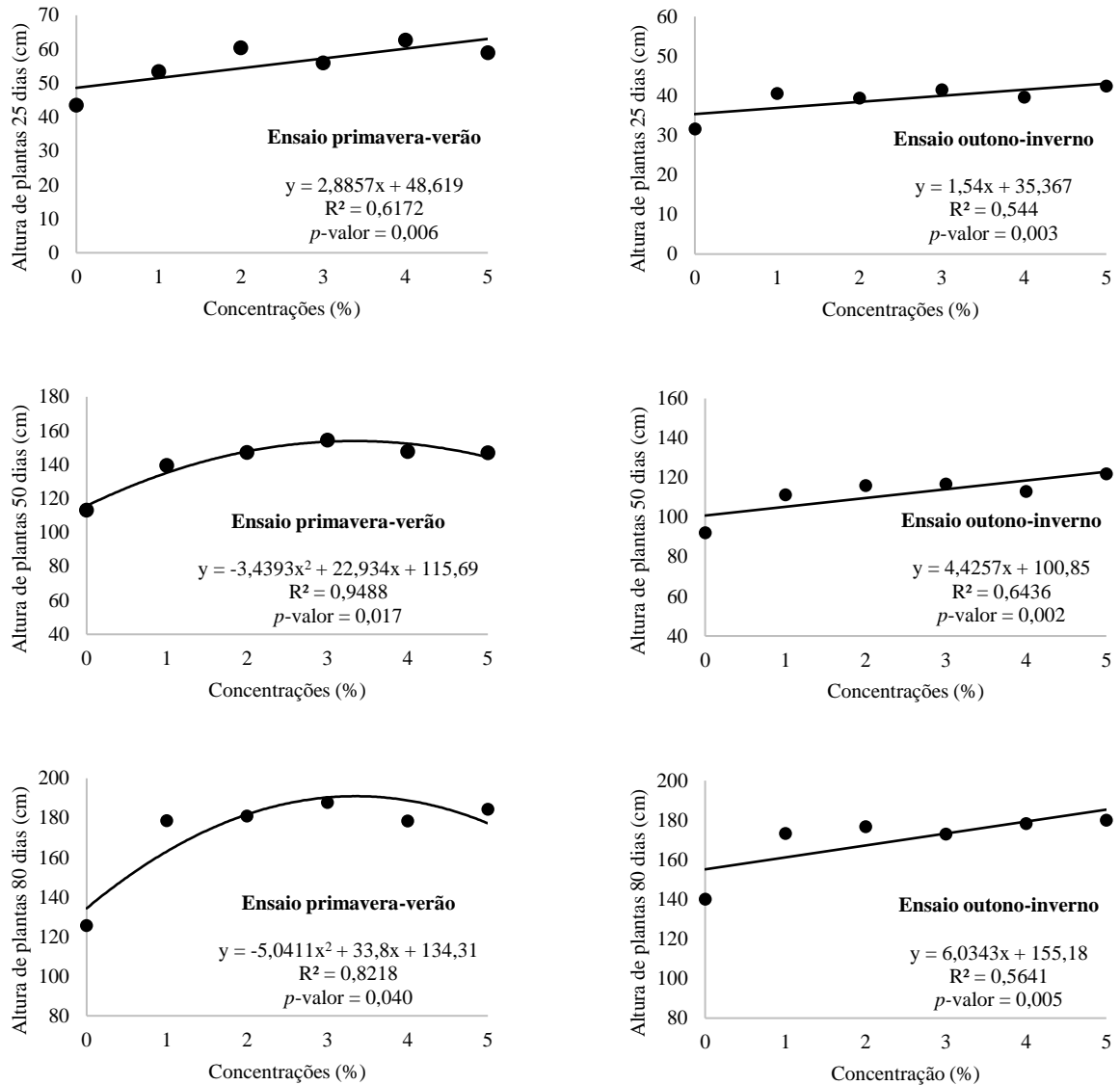
Fonte: Do autor (2023)



Em relação às variáveis vegetativas, altura de plantas aos 25, 50 e 80 DAT foi significativa para os tratamentos (ensaio primavera-verão:  $p$ -valor = 0,035; 0,027 e 0,05 ; coeficiente de variação = 13,67; 11,07 e 15,89%, respectivamente ; ensaio outono-inverno:  $p$ -valor = 0,009; 0,016 e 0,029 ; coeficiente de variação = 9,29; 9,19 e 9,42%, respectivamente). As concentrações do resíduo proporcionaram às plantas maior crescimento vegetal em relação ao controle em todas as avaliações. O comportamento dos dados foi representado por uma resposta linear para altura aos 25 DAT e quadrática para altura aos 50 e 80 DAT para o ensaio primavera-verão, e linear para todas para o ensaio outono-inverno (Figuras 24, 25, 26 e 27).

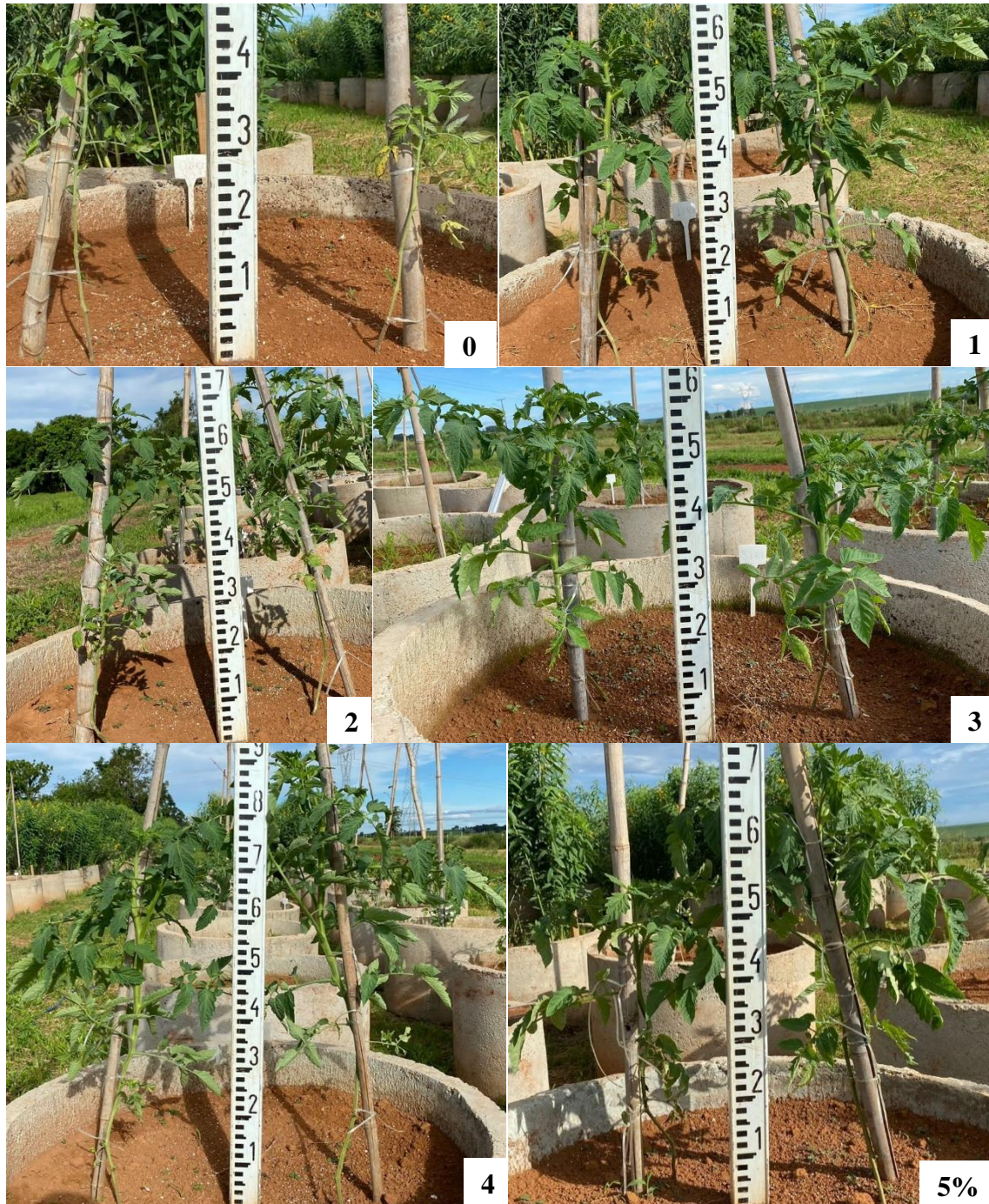
Para diâmetro de caule, peso de parte aérea fresca, peso de parte aérea seca e peso de raiz fresca houve diferença estatística entre os tratamentos (ensaio primavera-verão:  $p$ -valor = 0,003; 0,006; 0,002 e 0,001 ; coeficiente de variação = 9,84; 26,16; 23,05 e 19,01%, respectivamente ; ensaio outono-inverno:  $p$ -valor = 0,038; 0,014; 0,002 e 0,036 ; coeficiente de variação = 10,51; 19,77; 16,69 e 18,55%, respectivamente). Os dados apresentaram resposta linear para todas as variáveis, exceto para peso de raiz fresca (Figuras 28 e 29). Todas as concentrações do resíduo propiciaram maior desenvolvimento das plantas em relação ao controle em ambos os ensaios.

**Figura 24.** Avaliação da altura de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) aos 25, 50 e 80 dias após o transplante em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



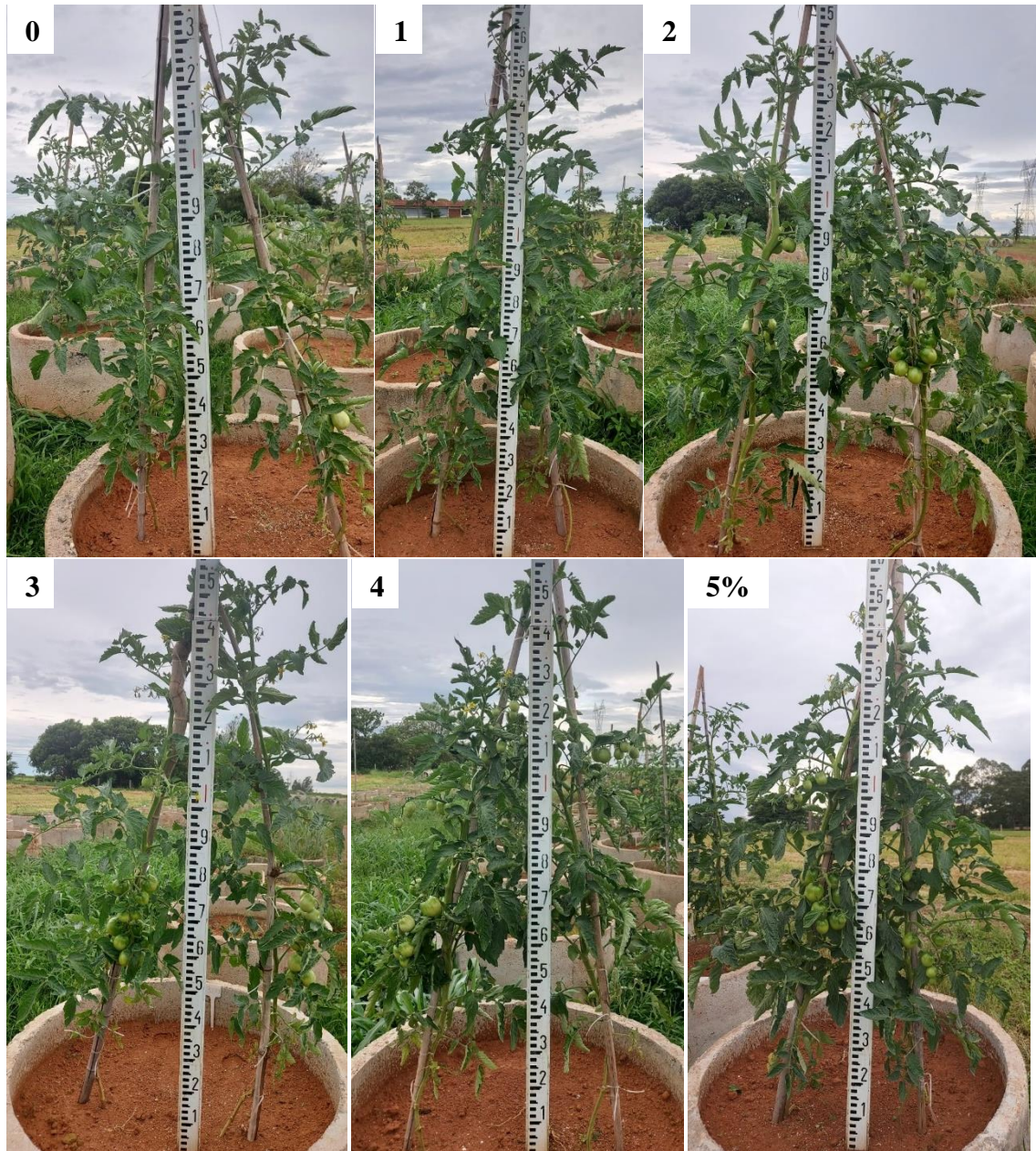
Fonte: Do autor (2023)

**Figura 25.** Altura de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) aos 25 dias após o transplante em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



Fonte: Do autor (2023)

**Figura 26.** Altura de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) aos 50 dias após o transplante em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



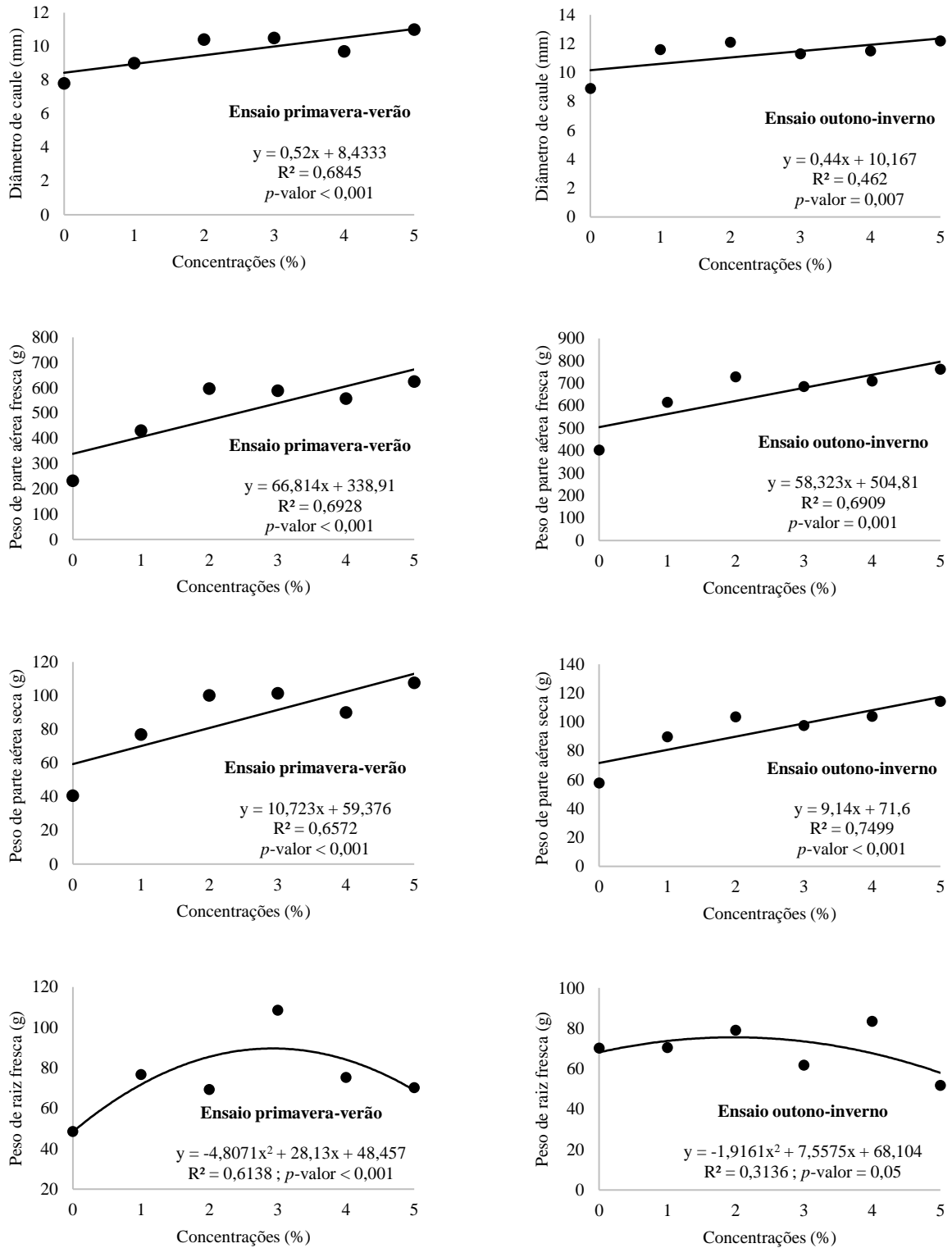
Fonte: Do autor (2023)

**Figura 27.** Altura de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) aos 80 dias após o transplante em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



Fonte: Do autor (2023)

**Figura 28.** Avaliação de diâmetro de caule, peso de parte aérea fresca e seca, e peso de raiz fresca de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



Fonte: Do autor (2023)

**Figura 29.** Sistema radicular de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



Fonte: Do autor (2023)

Na tabela 2 são expressos os resultados da análise nutricional foliar dos tratamentos do ensaio primavera-verão, em que é possível observar os maiores acúmulos de fósforo (P), alumínio (Al), ferro (Fe), cobre (Cu) e manganês (Mn), similar a uma curva quadrática. Já na

tabela 3 são expressos os resultados da análise nutricional foliar dos tratamentos do ensaio outono-inverno, observando um acúmulo semelhante de P, Al, Fe e Cu a uma curva quadrática. Os níveis de manganês (Mn) e zinco (Zn) são diretamente proporcionais às concentrações crescentes do resíduo.

**Tabela 2.** Resultado da análise nutricional foliar dos tratamentos estudados no ensaio primavera-verão de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).

Concentrações	P	K	Ca	Mg	Al	Na
%	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg
0	2,1	13,5	47,0	8,2	0,8	0,40
1	2,3	14,4	50,0	7,8	1,6	0,45
2	2,7	14,5	47,0	7,2	2,5	0,38
3	3,0	11,0	36,0	6,6	1,6	0,41
4	3,0	13,8	43,2	8,1	2,3	0,34
5	2,9	12,4	44,5	8,2	1,8	0,35
			<b>Fe</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>
			mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
0			573	170	49,5	6,7
1			869	247	58,0	6,3
2			1210	256	56,1	6,3
3			1311	333	59,0	7,3
4			1008	376	57,1	5,5
5			973	335	69,0	5,6

Fonte: Do autor (2023)

**Tabela 3.** Resultado da análise nutricional foliar dos tratamentos estudados no ensaio outono-inverno de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).

Concentrações	P	K	Ca	Mg	Al	Na
%	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg
0	1,8	12,0	40,9	4,9	3,4	0,53
1	2,3	11,0	41,7	4,5	8,9	0,45
2	2,2	11,6	46,3	4,9	2,7	0,40
3	2,6	11,3	47,3	5,1	6,7	0,37
4	2,4	12,2	43,4	5,0	6,8	0,37
5	3,2	14,2	45,3	5,6	5,3	0,37
			<b>Fe</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>
			mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
0			1711	16,2	76,8	5,9
1			3529	21,7	79,2	7,0
2			1448	17,0	86,6	6,3
3			2943	16,6	91,2	7,0
4			2881	15,6	90,0	8,0
5			2358	18,5	111,0	8,0

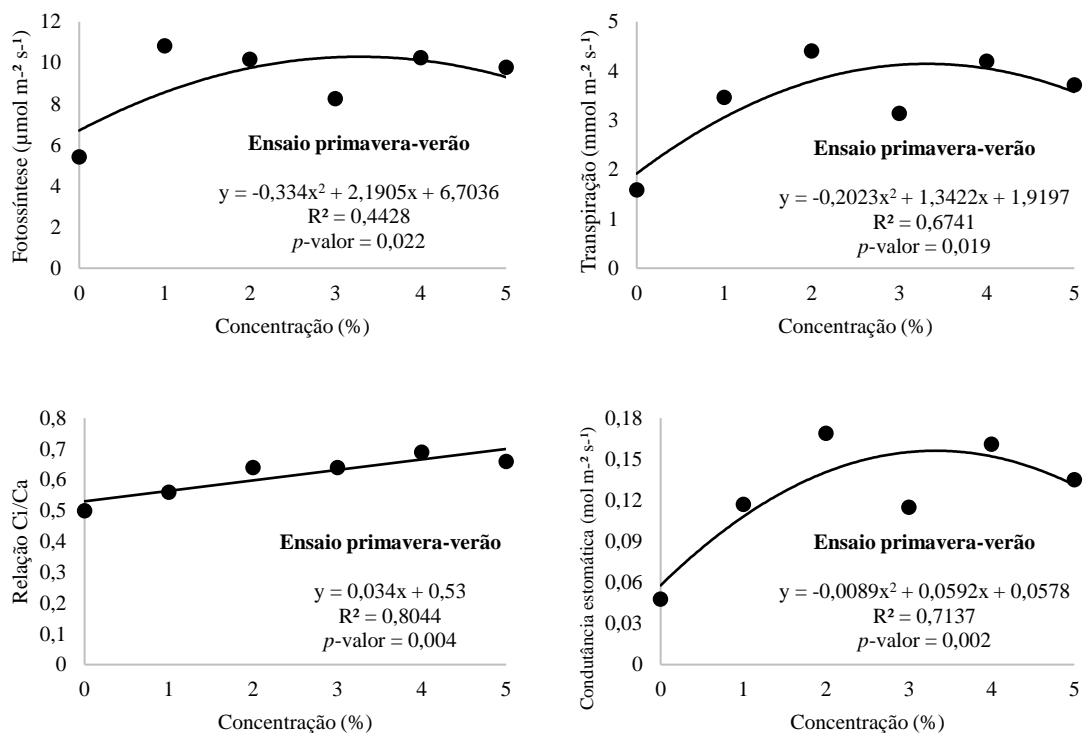
Fonte: Do autor (2023)



Em relação às variáveis de trocas gasosas da planta, fotossíntese, transpiração, condutância estomática, relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub>, e eficiência do uso da água, houve diferença estatística entre os tratamentos para todas apenas no ensaio primavera-verão, exceto eficiência do uso da água (ensaio primavera-verão:  $p$ -valor = 0,010; 0,002; 0,000; 0,047 e 0,213 ; coeficiente de variação = 27,70; 17,56; 24,21; 13,36 e 24,03%, respectivamente ; ensaio outono-inverno:  $p$ -valor = 0,179; 0,400; 0,098; 0,197 e 0,533; coeficiente de variação = 11,07; 8,04; 14,77; 5,72 e 9,02%, respectivamente).

No ensaio primavera-verão todas as concentrações do resíduo apresentaram redução dos danos fisiológicos nas plantas desencadeados pelo fitonematoide no final do experimento, fase em que há o início da colheita dos primeiros cachos de tomate, com intensa demanda de açúcares para os órgãos drenos frutos. Os dados de transpiração, fotossíntese e condutância estomática apresentaram um comportamento quadrático, e os de relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub> apresentaram uma resposta linear (Figura 30).

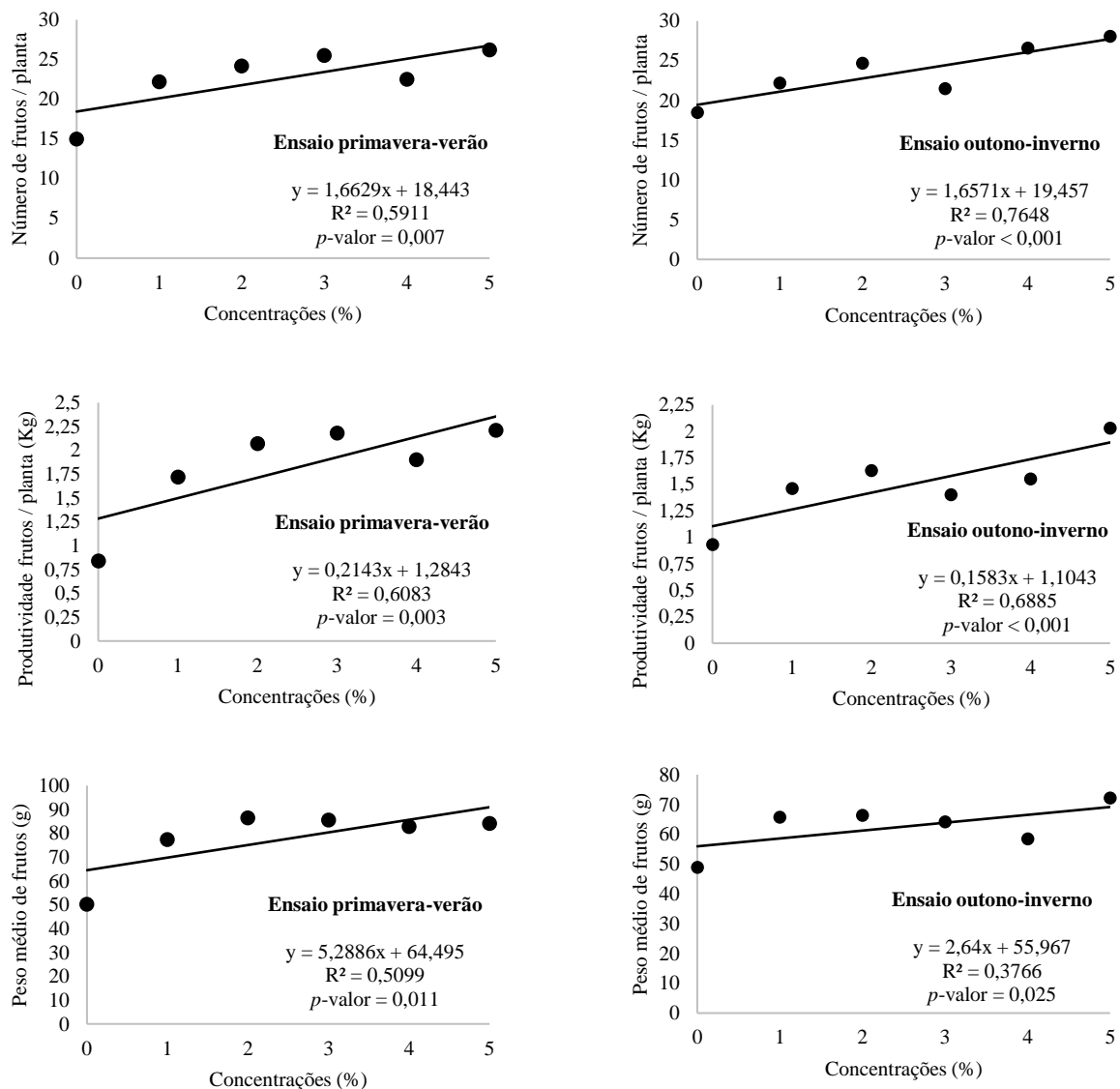
**Figura 30.** Avaliação de transpiração, fotossíntese, condutância estomática e relação entre a concentração interna ( $C_i$ ) e externa ( $C_a$ ) de CO<sub>2</sub> em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



Fonte: Do autor (2023)

Sobre as variáveis de produção, número de frutos, produtividade por planta e peso médio de frutos, houve diferença estatística entre os tratamentos para ambos os ensaios (ensaio primavera-verão:  $p$ -valor = 0,033; 0,014 e 0,034 ; coeficiente de variação = 19,77; 27,63 e 19,71%, respectivamente ; ensaio outono-inverno:  $p$ -valor = 0,010; 0,004 e 0,034 ; coeficiente de variação = 14,25; 20,40 e 14,29%, respectivamente). Os dados apresentaram resposta linear crescente (Figura 31). Em ambos os ensaios, houve incremento de produtividade de frutos por planta para todas as concentrações do resíduo, com mais de 50,5% de incremento e de até 163,1% em relação ao controle.

**Figura 31.** Avaliação de número de frutos por planta, produtividade de frutos por planta e peso médio de frutos em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em função das concentrações crescentes do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* incorporado ao solo infestado com *Meloidogyne incognita* raça 1.



#### 4 DISCUSSÃO

Em ensaios *in vitro* com o extrato aquoso, as concentrações crescentes do resíduo estimularam o crescimento micelial de *Fol 3*. Tal efeito pode ser explicado pelas alterações das propriedades do extrato no processo de esterilização em autoclave, como o aumento da mineralização dos nutrientes, aumentando o valor nutricional no meio de cultura. Na germinação de microconídios de *Fol 3* houve inibição pelas concentrações crescentes do resíduo. Esse efeito pode estar relacionado a metabólitos presentes no extrato após a esterilização por filtro, ou ainda, pela redução do pH no meio, formando um ambiente desfavorável à germinação do fungo. Avaliando o efeito de concentrações crescentes do extrato aquoso de biochar sobre *Fol 3* Silva et al. (2020) atribuíram a inibição da germinação de microconídios à presença de compostos tóxicos termossensíveis, uma vez que a esterilização do extrato aquoso em autoclave não inibiu o crescimento micelial, mas a esterilização por filtro inibiu a germinação.

O extrato aquoso do resíduo apresentou drástico efeito nematostático a *M. incognita*. Todas as concentrações conseguiram imobilizar os juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* em 24 horas de incubação. Na avaliação de mortalidade de J2, a porcentagem de mortos foi diretamente proporcional com as crescentes concentrações do extrato aquoso para 48 e 72 horas de incubação. Todas as concentrações apresentaram forte efeito nematicida no período de 96 horas de incubação. Também, interferiram negativamente na eclosão de J2. As ações nematostática e nematicida do extrato aquoso podem estar relacionadas aos mecanismos de ação direta dos microrganismos presentes no resíduo e de compostos tóxicos. Extratos aquosos de materiais orgânicos como o de esterco bovino interferem na eclosão e na atividade de *Meloidogyne* spp. (OKA e YERMIYAHU, 2002; OSEI et al., 2011). Estudando extratos aquosos de esterco bovino, de coelho e de pombo Mokbel (2007) relacionaram o efeito nematostático e nematicida sobre J2 de *M. incognita* à amônia, aos ácidos orgânicos, aos sulfetos e aos nitritos presentes nos extratos.

Compostos voláteis emitidos pelas concentrações crescentes do resíduo incorporado ao solo inibiram o crescimento micelial de *Fol 3*. Possivelmente gases tóxicos como a amônia e os ácidos graxos voláteis (AGVs) foram capazes de inibir o desenvolvimento do fungo. Resíduos ricos em nitrogênio liberam compostos voláteis tóxicos a fitopatógenos, como os ácidos glicólico, acético, fórmico, *n*-butírico e propiônico (ABBASI et al., 2009). Avaliando a incorporação de hidrolisado de peixe ao solo Bettiol et al. (2014) observaram a presença de AGVs como os ácidos glicólico, acético, *n*-butírico, propiônico, fórmico, *iso*-butírico e *iso*-valérico no controle de *Fol 3*.

Os microrganismos podem emitir compostos voláteis tóxicos a vários fitonematoides, como os ácidos orgânicos, as cetonas e os sulfetos (BUI et al., 2021). Em estudo de identificação de bactérias isoladas de esterco bovino LU et al. (2014) relataram quatorze cepas bacterianas capazes de produzir compostos voláteis com atividade nematicida a J2 de *M. incognita*. A emissão de compostos voláteis pela microbiota do resíduo de *T. molitor* também contribui para as ações nematostática e nematicida observadas nos ensaios *in vitro*. Somado aos gases tóxicos e AVGs citados anteriormente, os compostos voláteis foram tóxicos aos J2 de *M. incognita*, com drástica imobilidade quando expostos a 24 horas de incubação. Na avaliação de mortalidade, todas as concentrações do resíduo ocasionaram forte efeito nematicida sobre os J2 com 48 horas de exposição, interferindo também negativamente em sua eclosão.

A incorporação de resíduos orgânicos ao solo apresenta vários efeitos benéficos em longo prazo. Dentre esses efeitos incluem: capacidade de retenção de água, maior oferta de nutrientes e maior quantidade de nitrogênio orgânico (URRA et al., 2019). É relatado também que a mineralização do resíduo de *T. molitor* leva a uma rápida presença de NPK mais prontamente disponíveis à planta (HOUBEN et al., 2020; HOUBEN et al., 2021). No ensaio de supressividade do resíduo a *Fol 3* em cultivo de tomateiro, as concentrações crescentes propiciaram maior desenvolvimento vegetativo em relação ao controle, com exceção às avaliações de altura de plantas aos 60 e 75 dias após o transplântio (DAT). Como relatado no capítulo anterior, os níveis nutricionais de fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn), cobre (Cu) e zinco (Zn) no solo foram diretamente proporcionais às concentrações crescentes do resíduo. Possivelmente, com a oferta gradual de outros nutrientes, estão envolvidos em uma melhor nutrição às plantas, propiciando maior incremento de biomassa aérea e radicular. Alterações químicas e biológicas do solo podem estar relacionadas à menor altura de plantas observada.

Nas avaliações de trocas gasosas das plantas no ensaio de supressividade do resíduo a *Fol 3*, todas as concentrações incrementaram a taxa fotossintética e a eficiência do uso da água. A taxa fotossintética está relacionada com o aumento de biomassa das plantas. Plantas mais eficientes na utilização da água produzem mais matéria seca por grama de água transpirada (MACHADO et al., 2010). Com as concentrações crescentes do resíduo foi observado redução da taxa transpiratória, da condutância estomática e da relação entre a concentração interna ( $C_i$ ) e externa ( $C_a$ ) de  $CO_2$ . Maior valor de  $C_i/C_a$  nas plantas controle pode ser um indicativo de que a carboxilação está ocorrendo de forma mais lenta, com isso a relação  $C_i/C_a$  aumenta pelo acúmulo de carbono na câmara subestomática ( $C_i$ ). O fechamento dos estômatos e a queda na

taxa de transpiração com a utilização do resíduo sugerem que as plantas diminuíram as perdas de água sob condição de estresse hídrico, possivelmente desencadeado por *Fol 3*.

A incorporação do resíduo de *T. molitor* ao solo foi eficiente na redução da severidade externa da murcha-de-Fusarium do tomateiro, representada pela AACPD, em condições controladas. Avaliando a utilização de biochar sobre *Fol 3* em tomateiro Silva et al. (2020) atribuíram a redução da doença pela indução de resistência sistêmica nas plantas, observando aumento de biomassa aérea e radicular. Uma vez que o patógeno acomete o sistema vascular das plantas, interferindo na absorção de água, nutrientes e fotoassimilados. Efeitos em maior biomassa de plantas podem estar relacionadas com as mudanças das propriedades físico-químicas do solo. O incremento da população microbiana no solo pode interferir diretamente na supressão da doença por atuarem na promoção de crescimento vegetal. O incremento da comunidade bacteriana correlaciona-se positivamente com a supressividade a murchas desencadeados por *Fusarium* spp. (BONANOMI et al., 2007; HECK et al., 2019).

No ensaio de supressividade do resíduo a *M. incognita* em condições de campo todas as concentrações propiciaram maior crescimento e desenvolvimento de plantas. Alterações nas propriedades físico-químicas do solo podem contribuir para os incrementos observados, como a maior disponibilidade e oferta gradual de nutrientes, propiciando maior biomassa aérea e radicular. Vários resíduos orgânicos são relatados como supressores a fitonematoides atuando como promotores do crescimento vegetal, principalmente por melhorarem as características do solo, como a retenção e a infiltração de água, a aeração e a fertilidade (RENCO, 2013). Para peso de raiz fresca, as concentrações finais do resíduo apresentaram declínio na curva quadrática, que pode ser explicado pela redução do número de galhas observado no sistema radicular, as quais incrementam o valor de peso de raiz.

As maiores taxas de transpiração e de fotossíntese pelas concentrações do resíduo estão relacionadas com maior condutância estomática das plantas, a qual reduz as limitações estomáticas regulando a fotossíntese. O CO<sub>2</sub> difunde da atmosfera até o sítio de carboxilação da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase (RuBisCO) através dos estômatos. Assim, a maior condutância estomática promove maior captação de CO<sub>2</sub> e eleva sua concentração interna e, conseqüentemente, aumenta a taxa fotossintética e a relação  $C_i/C_a$ . A maior taxa fotossintética responde aos aumentos da  $C_i$  dependendo da atividade da RuBisCO e da regeneração de ribulose bifosfato (RuBP) (BELLASIO et al., 2018; GÁLVEZ et al., 2019).

As maiores taxas fotossintéticas observadas nos tratamentos com incorporação do resíduo explicam também o aumento do crescimento e do desenvolvimento das plantas. Uma vez que a conversão de energia luminosa em biomassa é movida pela extração de elétrons da

molécula de água pela fotossíntese (ZAVŘEL et al., 2018), as maiores taxas fotossintéticas observadas podem explicar maiores valores para biomassa de parte aérea e radicular.

Na avaliação sobre a população final de J2 de *M. incognita* no solo, a diferença de comportamento dos dados lineares pode ser explicada pelo período dos ensaios, em que o 1º ensaio ocorreu durante as estações primavera-verão, e o 2º ensaio durante as estações outono-inverno. Altas temperatura e umidade relativa do ar são mais favoráveis à multiplicação de *M. incognita*. Entretanto, em ambos os ensaios, as concentrações do resíduo reduziram a população de *M. incognita* no sistema radicular. Possíveis mecanismos como a liberação de compostos nematicidas, como amônia e ácidos graxos; introdução e intensificação de agentes de controle biológico; indução de resistência sistêmica; e mudanças nas propriedades físico-químicas do solo contribuem para a explicação da supressão a *M. incognita*. Combinações desses mecanismos, em vez de um único, são mais evidenciados na supressão de fitonematoides por resíduos orgânicos (OKA, 2010).

No resíduo da larva de *T. molitor* também é encontrado uma grande quantidade de membrana peritrófica, composta de proteínas (peritrofinas) e quitina (MOREIRA, 2013). Como benefícios da utilização da quitina na agricultura, pode-se citar a ativação de ações de defesa e respostas da planta contra o ataque de patógenos. Na presença de quitosana, um polissacarídeo obtido da desacetilação da quitina considerado um elicitador abiótico, são favorecidas fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese, quitinases, glucanases e espécies reativas de oxigênio (ANUSUYA e SATHIYABAMA, 2016; SATHIYABAMA et al., 2013). A quitosana também atua na promoção de crescimento de plantas (HOSSAIN e IQBAL, 2016; SALACHNA e ZAWADZINSKA, 2014); na indução à tolerância a estresse abiótico (PANDEY e DE, 2017); no aumento da condutância estomática e redução da transpiração (IRITI et al., 2009); na retenção de água no solo (NARAYANAN e DHAMODHARAN, 2015); na remediação de metais pesados (KAMARI et al., 2011); como condicionante de solo (ANGELIM et al., 2013); como antifúngico, através do sistema de endomembrana, afetando especialmente a integridade dos vacúolos (ALEKSANDROWICZ-TRZCINSKA et al., 2015; BERGER et al., 2016; RAUT et al., 2014); e como bionematicida, principalmente promovendo microrganismos quitinolíticos que destroem ovos e degradam a cutícula de juvenis de fitonematoides (ESCUADERO et al., 2016; KHALIL e BADAWY, 2012; SILVA et al., 2014).

Este é o primeiro estudo relacionando o resíduo da larva de *T. molitor* e seu efeito supressivo a fitopatógenos, *Fol 3* e *M. incognita*. Oligômeros de quitina provenientes da degradação enzimática da quitina pelos microrganismos possivelmente estão contidos no extrato aquoso do resíduo de *T. molitor*. Esses oligômeros e outros compostos tóxicos, voláteis

ou não, estão envolvidos na redução da mobilidade, aumento da mortalidade e redução da eclosão de J2 de *M. incognita* raça 1, além da redução do crescimento micelial e da germinação de microconídios de *Fol 3*. Efeito supressivo foi observado pelas concentrações do resíduo sobre a murcha-de-Fusarium em tomateiro em condições controladas e sobre *M. incognita* em tomateiro em condições de campo. Combinações de vários mecanismos provavelmente estão envolvidos na supressividade aos patógenos pelo resíduo da larva de *T. molitor*.

## 5 CONCLUSÃO

A utilização do extrato aquoso do resíduo reduziu a germinação de microconídios de *Fol 3* e incrementou o crescimento micelial do fungo. Também reduziu a mobilidade, a eclosão e proporcionou mortalidade de J2 de *M. incognita* raça 1.

Os compostos voláteis emitidos pelo resíduo reduziram o crescimento micelial de *Fol 3*. Bem como reduziram a mobilidade, a eclosão e ocasionaram mortalidade de J2 de *M. incognita* raça 1.

Houve efeito supressivo sobre a murcha-de-Fusarium no tomateiro, com incremento sobre as trocas gasosas da planta, e sobre a biomassa aérea e radicular. Assim como supressividade a *M. incognita*, com redução da população no solo e no sistema radicular em tomateiro, com incremento sobre as trocas gasosas da planta, sobre a biomassa aérea e radicular, e sobre a produtividade.

## REFERÊNCIAS

- ABBASI, P. A.; LAZAROVITS, G.; JABAJI-HARE, S. Detection of high concentrations of organics acids in fish emulsion and their role in pathogen or disease suppression. **Phytopathology**, v. 99, n. 3, p. 274-281, 2009.
- ALEKSANDROWICZ-TRZCINSKA, M.; BOGUSIEWICZ, A.; SZKOP, M.; DROZDOWSKI, S. Effect of chitosan on disease control and growth of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in a forest nursery. **Forests**, v. 6, n. 9, p. 3165-3176, 2015.
- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2016. 516 p.
- ANGELIM, A. L.; COSTA, S. P.; FARIAS, B. C. S.; AQUINO, L. F.; MELO, V. M. M. An innovative bioremediation strategy using a bacterial consortium entrapped in chitosan beads. **Journal of Environmental Management**, v. 127, p. 10-17, 2013
- ANUSUYA, S.; SATHIYABAMA, M. Effect of chitosan on growth, yield and curcumin content in turmeric under field condition. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 6, p. 102-106, 2016.

BELLASIO, C.; QUIRK, J.; BEERLING, D. J. Stomatal and non-stomatal limitations in savanna trees and C<sub>4</sub> grasses grown at low, ambient and high atmospheric CO<sub>2</sub>. **Plant Science**, v. 274, p. 181-192, 2018.

BERGER, L. R. R.; STAMFORD, N. P.; WILLADINO, L. G.; LARANJEIRA, D.; LIMA, M. A. B.; MALHEIROS, S. M. M.; OLIVEIRA, W. J.; STAMFORD, C. M. Cowpea resistance induced against *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* by crustaceous chitosan and by biomass and chitosan obtained from *Cunninghamella elegans*. **Biological Control**, v. 92, p. 45-54, 2016.

BETTIOL, W.; FORNER, C.; MATTOS, L. Development of suppressiveness to *Fusarium oxysporum* in container media and soil amended with fish emulsion and fish hydrolyzed. **Acta Horticulturae**, v. 1044, p. 133-138, 2014.

BONANOMI, G.; ANTIGNANI, V.; PANE, C.; SCALA, F. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. **Journal of Plant Pathology**, v. 89, n. 3, p. 311-324, 2007.

BONANOMI, G.; ZOTTI, M.; IDBELLA, M.; SILVERIO, N. D.; CARRINO, L.; CESARANO, G.; ASSAEED, A. M.; ABD-ELGAWAD, A.; Decomposition and organic amendments chemistry explain contrasting effects on plant growth promotion and suppression of *Rhizoctonia solani* damping off. **PLOS ONE**, v. 15, n. 4, p. 1-20, 2020.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração dos ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.

BUI, H. X.; DESAEGER, J. A. Volatile compounds as potential bio-fumigants against plant-parasitic nematodes – a mini review. **Journal of Nematology**, v. 53, p. 1-12, 2021.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique of determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, n. 1, p. 117-121, 2000.

CHITWOOD-BROWN, J.; VALLAD, G. E.; LEE, T. G.; HUTTON, S. F. Breeding for resistance to Fusarium wilt of tomato: a review. **Genes**, v. 12, n. 11, p. 1-16, 2021.

ESCUDERO, N.; FERREIRA, S. R.; LOPEZ-MOYA, F.; NARANJO-ORTIZ, M. A.; MARIN-ORTIZ, A. I.; THORNTON, C. R.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Chitosan enhances parasitism of *Meloidogyne javanica* eggs by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal Biology**, v. 120, n. 4, p. 572-585, 2016.

GABRIEL, M.; KULCZNSKI, S. M.; SANTOS, M. F. A.; SOUZA, C. F. B.; MUNIZ, M. F. B.; BOITEUX, L. S.; CARNEIRO, R. M. D. G. A novel virulent brazilian pathotype of *Meloidogyne javanica* towards the tomato *Mi-1.2* gene and pathogenicity to resistant rootstock. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 129, p. 1269-1276, 2022.

GÁLVEZ, A.; del AMOR, F. M.; ROS, C.; LOPEZ-MARÍN, J. New traits to identify physiological responses induced by different rootstocks after root-knot nematode inoculation (*Meloidogyne incognita*) in sweet pepper. **Crop Protection**, v. 119, n. 1, p. 126-133, 2019.



GONÇALVES, A. M.; COSTA, H.; FONSECA, M. E. N.; BOITEUX, C. A.; LOPES, C. A.; REIS, A. Variability, and geographical distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* physiological races and field performance of resistant sources in Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 1207, n. 5, p. 45-50, 2018.

HECK, D. W.; GHINI, R.; BETTIOL, W. Deciphering the suppressiveness of banana wilt with organic residue. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 47-60, 2019.

HOSSAIN, M. S.; IQBAL, A. Effect of shrimp chitosan coating on postharvest quality of banana (*Musa sapientum* L.) fruits. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 1, p. 277-283, 2016.

HOUBEN, D.; DAOULAS, G.; DULAURENT, A. M.; Assessment of the short-term fertilizer potential of mealworm frass using a pot experiment. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 2021.

HOUBEN, D.; DAOULAS, G.; FAUCON, M. P.; DULAURENT, A. M. Potential use of mealworm frass as a fertilizer: impact on crop growth and soil properties. **Scientific Reports**, v. 10, n. 4659, p. 1-9, 2020.

IRITI, M.; PICCHI, V.; ROSSONO, M.; GOMARASCA, S.; LUDWIG, N.; GARGANO, M.; FAORO, F. Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 493-500, 2009.

JENKINS, W. R. A Rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 48, p. 692, 1964.

KAMARI, A.; PULFORD, I. D.; HARGREAVES, J. S. Chitosan as a potential amendment to remediate metal contaminated soil – a characterization study. **Colloids and Surfaces B Biointerfaces**, v. 82, n. 1, p. 71-80, 2011.

KHALIL, M. S.; BADAWY, M. E. I. Nematicidal activity of a biopolymer chitosan at different molecular weights against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Plant Protection Science**, v. 48, n. 4, p. 170-178, 2012.

LAZAROVA, S.; COYNE, D.; RODRÍGUEZ, M. G.; PETEIRA, B.; CIANCIO, A. Functional diversity of soil nematodes in relation to the impact of agriculture – a review. **Diversity**, v. 13, n. 2, p. 1-22, 2021.

LIU, H.; YANG, Z.; TAN, D.; WU, Z. Study on the fertilizer efficiency of the frass of *Tenebrio molitor* L. **Journal of Quanzhou Normal University (Natural Science)**, v. 21, n. 4, p. 68-71, 2003.

LU, H.; WANG, X.; ZHANG, K.; XU, Y.; ZHOU, L.; LI, G. Identification and nematicidal activity of bacteria isolated from cow dung. **Annals of Microbiology**, v. 64, p. 407-411, 2014.

MACHADO, A. F. L.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, L. D. T.; FERREIRA, F. A.; VIANA, R. G.; MACHADO, M. S.; FREITAS, F. C. L. Eficiência fotossintética e uso da água em plantas de eucalipto pulverizadas com glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 319-327, 2010.

- MOKBEL, A. A. Impact of certain organic soil amendments and chemical nematicides on controlling *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 32, n. 10, p. 821-8230, 2007.
- MOREIRA, N. R. **Fisiologia molecular intestinal de *Tenebrio molitor***. 2013. 300 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- NARAYANAN, A.; DHAMODHARAN, R. Super water-absorbing new material from chitosan, EDTA and urea. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 337-343, 2015.
- OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments – a review. **Applied Soil Ecology**, v. 44, n. 2, p. 101-115, 2010.
- OKA, Y.; YERMIYAHU, U. Suppressive effects of composts against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on tomato. **Nematology**, v. 4, n. 8, p. 891-898, 2002.
- OSEI, K.; ADDICO, R.; NAFEO, A.; EDU-KWARTENG, A.; AGYEMANG, A.; DANSO, Y.; SACKKEY-ASANTE, J. Effect of some organic waste extracts on hatching of *Meloidogyne incognita* eggs. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 10, p. 2255-2259, 2011.
- PANDEY, P.; DE, N. Effect of chitosan based superabsorbent on water retention behavior of soil and seedling growth of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Indian Journal of Ecology**, v. 44, n. 5, p. 456-460, 2017.
- POVEDA, J. JIMÉNEZ-GÓMEZ, A.; SAATI-SANTAMARÍA, Z.; USATEGUI-MARTÍN, R.; RIVAS, R.; GARCÍA-FRAILE, P. Mealworm frass as a potential biofertilizer and abiotic stress tolerance-inductor in plants. **Applied Soil Ecology**, v. 142, p. 110-122, 2019.
- R CORE TEAM, 2023. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>. (R version 4.0.3).
- RAUT, S. A.; BORKAR, S. G.; NAGRALE, D. T. Effect of disease (*Alternaria* leaf blight) resistance elicitors on growth parameters of tomato plant. **The Bioscan**, v. 9, n. 3, p. 1157-1159, 2014.
- RENCO, M. Organic amendments of soil as useful tools of plant parasitic nematodes control. **Helminthologia**, v. 50, n. 1, p. 3-14, 2013
- SALACHNA, P.; ZAWADZINSKA, A. Effect of chitosan on plant growth, flowering and corms yield of potted freesia. **Journal of Ecological Engineering**, v. 15, n. 3, p. 97-102, 2014.
- SATHIYABAMA, M.; AKILA, G.; CHARLES, R. E. Chitosan-induced defence responses in tomato plants against early blight disease caused by *Alternaria solani* (Ellis and Mastin) Sorauer. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 14, p. 1777-1787, 2013.
- SIKANDAR, A.; JIA, L.; WU, H.; YANG, S. *Meloidogyne enterolobii* risk to agriculture, its present status and future prospective for management. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1-16, 2023.

SILVA, L. G.; ANDRADE, C. A.; BETTIOL, W. Biochar amendment increases soil microbial biomass and plant growth and suppresses Fusarium wilt in tomato. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, p. 73-83, 2020.

SILVA, M. N.; CARDOSO, A. R.; FERREIRA, D.; BRITO, M.; PINTADO, M. E.; VASCONCELOS, M. W. Chitosan as a biocontrol agent against the pinewood nematode (*Busaphelenchus xylophilus*). **Forest Pathology**, v. 44, n. 5, p. 420-423, 2014.

SILVA, R. V.; LIMA, B. V.; PEIXOTO, F. R.; GONDIM, J. P. E.; MIRANDA, B. E. C. Supplanting resistance of the *Mi* gene by root-knot nematode in industrial tomato in the Cerrado in Goiás state of Brazil. **Ciência Rural**, v. 49, n. 9, p. 1-4, 2019.

SRINIVAS, C.; DEVI, D. N.; MURTHY, K. N.; MOHAN, C. D.; LAKSHMEESHA, T. R.; SINGH, B. P.; KALAGATUR, N. K.; NIRANJANA, S. R.; HASHEM, A.; ALQARAWI, A. A.; TABASSUM, B.; ABD-ALLAH, E. F.; NAYAKA, S. C.; SRIVASTAVA, R. K. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: biology to diversity – a review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1315-1324, 2019.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Raleigh: International *Meloidogyne* Project, NCSU & USAID Coop. Publ., 1978. 111 p.

TOKESHI, H.; GALLI, F. Variabilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Wr) Sny & Hans em São Paulo. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 23, p. 195-209, 1966.

URRA, J.; ALKORTA, I.; GARBISU, C. Potential benefits and risks for soil health derived from the use organic amendments in agriculture. **Agronomy**, v. 9, n. 9, p. 1-23, 2019.

ZAVŘEL, T.; SZABÓ, M.; TAMBURIC, B.; EVENHUIS, C.; KUZHIUMPARAMBIL, U.; LITERÁKOVÁ, P.; LARKUM, A. W. D.; RAVEN, J. A.; ČERVENÝ, J.; RALPH, P. J. Effect of carbon limitation on photosynthetic electron transport in *Nannochloropsis oculata*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 181, p. 31-43, 2018.

ZENG, X.; HAN, F.; YE, J.; ZHONG, Y. Recycling spent *Pleurotus eryngii* substrate supplemented with *Tenebrio molitor* feces for cultivation of *Agrocybe chaxingu*. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 6, n. 4, p. 275-280, 2017.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Manejo fitossanitário realizado durante o ensaio de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).

<b>Data</b>	<b>Objetivo da aplicação</b>	<b>Produtos Aplicados</b>
20/03/2023	Manutenção	Polytrin
24/03/2023		Polytrin
24/03/2023		Engeo Pleno S
24/03/2023		Absoluto Fix
01/04/2023		Polytrin
01/04/2023		Engeo Pleno S
01/04/2023		Absoluto Fix
08/04/2023		Polytrin
08/04/2023		Engeo Pleno S
08/04/2023		Absoluto Fix
16/04/2023		Polytrin
16/04/2023		Engeo Pleno S
16/04/2023		Absoluto Fix
23/04/2023		Polytrin
23/04/2023		Engeo Pleno S
23/04/2023		Absoluto Fix
30/04/2023		Polytrin
30/04/2023		Engeo Pleno S
30/04/2023		Absoluto Fix
13/05/2023		Polytrin
13/05/2023		Engeo Pleno S
13/05/2023		Absoluto Fix
20/05/2023		Polytrin
20/05/2023		Engeo Pleno S
20/05/2023		Absoluto Fix

**Anexo 2.** Manejo fitossanitário realizado durante o 1º ensaio (primavera-verão) de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).

<b>Data</b>	<b>Objetivo da aplicação</b>	<b>Produtos Aplicados</b>
05/11/2021	Manutenção	Engeo Pleno S
05/11/2021		Match EC
05/11/2021		Score
12/11/2021		Engeo Pleno S
12/11/2021		Match EC
12/11/2021		Score
12/11/2021		Revus
12/11/2021		Tutor
19/11/2021		Engeo Pleno S
19/11/2021		Match EC
19/11/2021		Score
19/11/2021		Revus
19/11/2021		Tutor
26/11/2021		Engeo Pleno S
26/11/2021		Match EC
26/11/2021		Score
26/11/2021		Revus
26/11/2021		Tutor
03/12/2021		Imunit
03/12/2021		Tiger 100 EC
03/12/2021		Orkestra
03/12/2021		Tutor
07/12/2021		Engeo Pleno S
07/12/2021		Match EC
10/12/2021		Imunit
10/12/2021		Tiger 100 EC
10/12/2021		Orkestra
10/12/2021		Tutor
16/12/2021		Engeo Pleno S
16/12/2021		Match EC
16/12/2021		Imunit
16/12/2021		Tiger 100 EC
16/12/2021		Orkestra
16/12/2021		Score
16/12/2021		Revus
23/12/2021		Engeo Pleno S
23/12/2021		Match EC
23/12/2021		Tiger 100 EC
30/12/2021		Match EC
30/12/2021		Imunit
30/12/2021		Ampligo
30/12/2021		Orkestra
05/01/2022	Match EC	
05/01/2022	Imunit	
05/01/2022	Ampligo	
05/01/2022	Orkestra	

**Anexo 3.** Dados climatológicos diários durante a realização do 1º ensaio (primavera-verão) de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum Lycopersicum* L.).

Data	Novembro/2021				Dezembro/2021			
	Temperatura (°C)		Chuva (mm)	Umidade Relativa (%)	Temperatura (°C)		Chuva (mm)	Umidade Relativa (%)
	Mín.	Máx.			Mín.	Máx.		
1	17,0	25,4	5,4	85,5	19,4	28,4	13,4	80,3
2	17,8	27,2	33,0	84,6	18,7	28,7	0,0	82,9
3	19,3	27,8	19,6	83,8	17,6	28,9	1,8	80,1
4	19,1	28,8	0,2	81,0	19,5	28,8	0,0	78,7
5	19,1	29,2	0,0	74,8	19,2	28,5	38,8	80,8
6	19,3	31,3	24,6	74,4	17,6	27,7	2,2	82,5
7	20,2	29,3	0,0	78,4	19,3	27,7	0,2	79,4
8	17,9	29,0	11,8	81,9	17,4	28,2	0,0	75,4
9	18,7	28,0	0,0	80,6	17,8	28,4	0,0	73,4
10	20,0	28,1	21,4	81,6	19,1	30,2	0,0	71,6
11	17,9	22,1	34,8	84,2	19,4	30,3	2,2	73,1
12	18,7	25,1	13,6	84,6	19,3	28,9	1,0	81,6
13	19,1	24,7	0,0	84,6	20,2	28,2	9,6	81,1
14	18,3	25,4	2,0	85,1	19,7	24,9	18,8	79,8
15	17,1	26,4	0,0	81,0	19,1	24,8	20,8	79,3
16	18,7	24,1	0,0	84,8	19,3	25,6	2,6	80,5
17	18,6	24,7	27,2	83,8	19,1	27,6	2,4	82,7
18	18,8	22,6	27,0	82,1	19,7	27,6	1,6	78,9
19	19,1	26,6	1,8	81,9	18,1	26,3	51,2	82,9
20	19,0	27,8	7,2	80,3	17,8	27,8	15,6	82,7
21	20,3	26,3	12,8	84,1	20,2	27,5	0,0	81,6
22	19,4	28,8	0,6	80,9	20,1	28,8	0,0	81,0
23	20,3	28,9	0,0	79,5	19,9	28,8	6,8	80,8
24	20,2	30,1	0,0	73,0	18,6	24,4	3,0	82,2
25	20,7	29,4	0,0	68,6	18,5	27,3	0,2	78,4
26	20,6	29,7	3,4	75,9	18,0	28,3	0,2	77,0
27	19,5	28,6	3,2	82,4	19,1	30,2	0,0	71,0
28	19,2	28,9	22,0	83,3	19,2	29,3	0,0	78,0
29	18,3	25,6	1,6	83,0	18,2	28,3	41,0	82,5
30	18,9	27,2	3,6	84,8	17,7	23,4	17,8	81,7
31	-	-	-	-	18,8	25,1	0,4	81,1



**Anexo 4.** Manejo fitossanitário realizado durante o 2º ensaio (outono-inverno) de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).

<b>Data</b>	<b>Objetivo da aplicação</b>	<b>Produtos Aplicados</b>
20/07/2022	Manutenção	Engeo Pleno S
20/07/2022		Match EC
20/07/2022		Kocide
27/07/2022		Engeo Pleno S
27/07/2022		Revus Opti
27/07/2022		Kocide
27/07/2022		Polytrin
01/08/2022		Ampligo
01/08/2022		Polytrin
08/08/2022		Polytrin
08/08/2022		Match EC
08/08/2022		Score
12/08/2022		Orkestra
12/08/2022		Match EC
12/08/2022		Engeo Pleno S
16/08/2022		Match EC
16/08/2022		Polytrin
19/08/2022		Match EC
19/08/2022		Polytrin
22/08/2022		Absoluto Fix
22/08/2022		Imunit
22/08/2022		Polytrin
25/08/2022		Polytrin
25/08/2022		Match EC
25/08/2022		Engeo Pleno S
29/08/2022		Score
29/08/2022		Imunit
29/08/2022		Polytrin
29/08/2022		Ampligo
02/09/2022		Polytrin
02/09/2022		Eleitto
06/09/2022		Ampligo
06/09/2022		Voliam Targo
06/09/2022	Karate Zeon 50 CS	
09/09/2022	Polytrin	
09/09/2022	Match EC	



**Anexo 5.** Dados climatológicos diários durante a realização do 2º ensaio (outono-inverno) de supressividade do resíduo da larva de *Tenebrio molitor* a *Meloidogyne incognita* raça 1 em tomateiro (*Solanum Lycopersicum* L.).

Data	Junho/2022				Julho/2022			
	Temperatura (°C)		Chuva (mm)	Umidade Relativa (%)	Temperatura (°C)		Chuva (mm)	Umidade Relativa (%)
	Mín.	Máx.			Mín.	Máx.		
1	-	-	-	-	15,5	27,5	0,0	54,2
2	-	-	-	-	15,1	26,7	0,0	59,3
3	-	-	-	-	16,2	26,5	0,0	61,8
4	-	-	-	-	14,8	25,4	0,0	58,4
5	-	-	-	-	11,2	24,7	0,0	60,9
6	-	-	-	-	14,8	25,9	0,0	56,5
7	-	-	-	-	14,5	26,3	0,0	58,2
8	-	-	-	-	16,1	26,3	0,0	60,5
9	-	-	-	-	15,2	25,6	0,0	57,5
10	-	-	-	-	15,0	25,7	0,0	60,5
11	-	-	-	-	14,0	25,4	0,0	59,0
12	-	-	-	-	14,0	26,9	0,0	56,3
13	-	-	-	-	15,6	26,9	0,0	50,1
14	-	-	-	-	15,8	27,5	0,0	53,2
15	-	-	-	-	16,2	27,6	0,0	54,2
16	-	-	-	-	16,8	27,2	0,0	53,2
17	-	-	-	-	14,2	25,8	0,0	56,8
18	-	-	-	-	13,8	24,9	0,0	60,8
19	-	-	-	-	12,3	24,9	0,0	55,0
20	-	-	-	-	13,9	26,9	0,0	50,9
21	-	-	-	-	16,5	27,8	0,0	49,6
22	-	-	-	-	15,1	27,3	0,0	55,3
23	-	-	-	-	16,1	27,0	0,0	51,1
24	14,8	26,3	0,0	59,9	14,9	26,2	0,0	52,5
25	14,8	26,4	0,0	57,5	15,7	26,5	0,0	54,1
26	13,9	25,3	0,0	58,1	15,3	26,7	0,0	54,2
27	14,9	25,9	0,0	61,8	16,7	27,3	0,0	51,2
28	13,9	25,5	0,0	64,5	16,4	26,9	0,0	54,5
29	14,8	26,7	0,0	61,4	15,8	26,3	0,0	49,5
30	15,3	25,8	0,0	59,8	14,5	26,5	0,0	49,9
31	-	-	-	-	14,9	26,8	0,0	50,9

Data	Agosto/2022				Setembro/2022			
	Temperatura (°C)		Chuva (mm)	Umidade Relativa (%)	Temperatura (°C)		Chuva (mm)	Umidade Relativa (%)
	Mín.	Máx.			Mín.	Máx.		
1	16,6	29,8	0,0	45,6	14,7	27,3	0,0	50,1
2	18,6	29,8	0,0	50,7	14,8	29,1	0,0	42,2
3	18,8	29,4	0,0	49,2	17,0	31,7	0,0	40,9
4	17,6	30,0	0,0	47,5	17,3	32,2	0,0	40,8
5	18,6	30,5	0,0	43,0	18,1	31,7	0,0	45,3
6	18,3	31,1	0,0	36,4	18,6	30,3	0,0	51,1
7	20,3	31,4	0,0	35,7	16,6	30,3	0,0	51,5
8	18,1	26,0	0,0	54,8	17,1	32,1	0,0	46,2
9	16,7	28,2	1,4	64,9	19,8	32,7	0,0	38,3
10	9,4	17,4	0,8	79,8	20,7	33,8	0,0	32,5
11	5,6	23,0	0,0	64,0	21,9	34,4	0,0	33,0
12	10,6	28,2	0,0	54,1	19,8	34,1	0,0	32,0
13	15,7	29,1	0,0	46,1	-	-	-	-
14	16,0	28,6	0,0	51,8	-	-	-	-
15	16,0	29,8	0,0	47,4	-	-	-	-
16	18,5	31,0	0,0	41,4	-	-	-	-
17	19,4	31,6	0,0	40,7	-	-	-	-
18	15,9	31,8	0,0	46,1	-	-	-	-
19	12,3	22,1	0,0	75,1	-	-	-	-
20	12,6	27,4	0,0	64,1	-	-	-	-
21	15,2	26,3	0,0	58,2	-	-	-	-
22	15,1	26,5	0,0	56,7	-	-	-	-
23	15,2	26,7	0,0	48,9	-	-	-	-
24	16,2	27,4	0,0	45,3	-	-	-	-
25	16,4	28,2	0,0	41,6	-	-	-	-
26	16,8	30,0	0,0	43,7	-	-	-	-
27	17,7	29,9	0,0	44,1	-	-	-	-
28	18,9	30,8	0,0	42,3	-	-	-	-
29	17,8	31,1	0,0	40,4	-	-	-	-
30	15,7	29,5	0,0	53,9	-	-	-	-
31	16,2	26,8	0,0	60,4	-	-	-	-