UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA (*Glycine max* L.) NA INFECTIVIDADE E MORFOGÊNESE DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* [(TREUB, 1885) Chitwood, 1949]

VERSÃO DEFESA

CASSIA DE CARVALHO

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2016

TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA (*Glycine max* L.) NA INFECTIVIDADE E MORFOGÊNESE DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* [(TREUB, 1885) Chitwood, 1949]

CASSIA DE CARVALHO
Bióloga

Orientador: PROF. Ph.D. WALBER LUIZ GAVASSONI

Co-orientadora: PROFª. DRª. LILIAN MARIA DE ARRUDA BACCHI

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2016

VERSÃO DEFESA

TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA (*Glycine max* L.) NA INFECTIVIDADE E MORFOGÊNESE DE JUVENIS DE *Meloidogyne javanica* [(TREUB, 1885) Chitwood, 1949]

Por

Cassia de Carvalho

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de

DOUTORA EM AGRONOMIA

Aprovada em: 15/07/2016

Prof. Ph.D. Walber Luiz Gavassoni
Orientador – UFGD/FCA

Prof[a]. Dr[a]. Elisângela Dupas
UFGD/FCA

Prof[a]. Dr[a]. Silvia Correa Santos
UFGD/FCA

Dr. Samir Oliveira Kassab
UFGD/FCBA

Dr[a]. Cláudia de Souza Zanella
UEMS/Dourados, MS

VERSÃO DEFESA

VERSÃO DEFESA

"O aprendizado é uma atividade criativa.
Somos levados a aprender pela promessa de prazer
que é atingida quando aprendemos algo.
Com prazer, a vida é uma aventura criativa;
sem ele uma luta pela sobrevivência".

Alexander Lowen

VERSÃO DEFESA

Aos meus pais Gerson e Marilene,

ao meu irmão e sobrinhos,

ao meu esposo Evandro

e à minha doce Maria Clara

DEDICO

SUMÁRIO

PÁGINA

RESUMO GERAL.....iii
INTRODUÇÃO GERAL.....1
Referências Bibliográficas 5
CAPÍTULO I. TRATAMENTO DE SEMENTES NO DESEMPENHO A CAMPO DA CULTIVAR DE SOJA BMX Magna RR (DON MARIO 7.0i) EM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE *Meloidogyne javanica* 8
Resumo.....8
Introdução.....9
Material e métodos.....12
Resultados e discussão.....18
Conclusões.....27
Referências bibliográficas.....28
CAPÍTULO II. TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA SOBRE A INFECTIVIDADE DE *Meloidogyne javanica* EM CONDIÇÕES CONTROLADAS.....32
Resumo.....32
Introdução.....33
Material e métodos.....35
Resultados e discussão.....39
Conclusões.....47
Referências bibliográficas.....48
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....52

VERSÃO DEFESA

RESUMO GERAL

RESUMO: Objetivou-se avaliar a influência do tratamento de sementes de soja sobre a infectividade e a morfogênese de juvenis de *M. javanica* e verificar o efeito destes sobre a produtividade e demais características agronômicas da soja, na presença e ausência do patógeno a campo, bem como o efeito direto do tratamento de sementes sobre a infectividade de juvenis, sob diferentes formas de exposição de ovos de *M. javanica* aos produtos, em condições ambientais controladas. Foram conduzidos dois experimentos simultâneos a campo na safra 2013/2014 em duas áreas distintas na Fazenda Experimental da UFGD, sendo um deles em presença e outro em ausência do nematoide, ambos irrigados e em delineamento de blocos casualizados com seis tratamentos e cinco repetições. Como tratamento utilizou-se sementes da cv. BMX Magna RR tratadas com agrotóxicos, sendo quatro de natureza química (Avicta Completo®, CropStar®, Standak Top® e Poncho®) e um microbiológico (VOTiVO®), além da testemunha tratada com água. No experimento em presença do patógeno, imediatamente após a semeadura realizou-se a infestação artificial com ovos do nematoide. Aos 13 DAS verificou-se menor infectividade de juvenis com o tratamento CropStar® e aos 45 DAS com o tratamento Standak Top®. Maior produtividade foi observada no tratamento com Poncho em ausência do nematoide. O efeito direto dos produtos foi avaliado em quatro experimento conduzidos Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia, utilizando os mesmos tratamentos em delineamento inteiramente casualizado. Sementes tratadas e não tratadas foram semeadas em bandejas contendo areia grossa esterilizada, em estádio V1 estas foram transplantadas individualmente para caixas acrílicas com 2,5cm^2 contendo areia grossa esterilizada, onde ovos de *M. javanica* submetidos a diferentes regimes e períodos de exposição aos produtos, foram inoculados. Aos 10 DAI os tratamentos com CropStar® e Avicta Completo® inibiram 100% a infectividade de juvenis, quando os ovos foram expostos diretamente aos tratamentos por mais de uma hora. Quando em menor concentração Poncho promoveu incremento da infectividade de juvenis de *M. javanica* em relação aos demais tratamentos e a testemunha.

Palavras-chave: *Glycine max*, nematoide das galhas, controle químico, morfogênese, nematicidas

VERSÃO DEFESA

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o segundo maior produtor e exportador mundial de soja [*Glycine max* (L.) Merril], com uma área plantada de cerca de 33 milhões hectares e produção em torno de 102 milhões de toneladas na safra 2015/2016 (CONAB, 2016).

A soja é a principal cultura agrícola explorada em Mato Grosso do Sul sendo plantada em grande parte do Estado em sucessão ao milho safrinha. Entretanto, as operações agrícolas, aliadas ao sistema de cultivo, proporcionaram condições adequadas para o desenvolvimento dos nematoides nos solos sul-mato-grossenses. Assim, os nematoides vêm crescendo em importância no sistema produtivo e ganhando espaço no cenário brasileiro como um dos principais problemas fitossanitários, podendo inclusive inviabilizar algumas áreas de cultivo (GRIGOLLI e ASMUS, 2014).

Entre os animais multicelulares, os nematoides são os mais abundantes, constituindo um grupo diverso. Pertencem a um filo próprio (Nemata ou Nematoda) e possuem variados hábitos alimentares e diferentes papéis ecológicos no solo (GOULART, 2008). Com bases em seus hábitos alimentares, os nematoides do solo podem ser classificados em cinco grupos básicos: fitoparasitas (ou fitófagos), bacteriófagos, micófagos, predadores e onívoros (YATES et al., 1993).

Os fitoparasitas destacam-se no grupo, pelos sérios danos que causam a diversas culturas de interesse econômico no mundo, podendo ocasionar até 100% de perdas, em condições favoráveis de ambiente e hospedeiro. Além da nutrição direta, os nematoides fitoparasitas acarretam prejuízos às culturas por alterarem a capacidade de absorção de água e nutrientes (RITZINGER e FANCELLI, 2006) e por interferirem em importantes processos biológicos, como a associação micorrízica (ATILANO et al., 1981) e a nodulação por *Bradyrhizobium* sp. (MATTOS et al., 2006) em plantas que possuem essa capacidade simbiótica.

Mais de 100 espécies de nematoides pertencentes a cerca de 50 gêneros já foram associados a cultivos de soja em todo o mundo. No Brasil, as espécies que provocam os maiores danos são *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, *Heterodera glycines*, *Pratylenchus brachyurus* e *Rotylenchulus reniformis* (FERRAZ, 2001; DIAS et al., 2010).

Os primeiros relatos de danos causados em soja pelos nematoides das galhas no Brasil, são concomitantes à introdução da cultura no país. Dentre as espécies do gênero

VERSÃO DEFESA

Meloidogyne, *M. incognita* [(KOFOID & WHITE, 1919) Chitwood, 1949] e *M. javanica* [(TREUB, 1885) Chitwood, 1949], são consideradas as que mais limitam a produção de soja no Brasil (EMBRAPA, 2011). Evidências apontam que *M. javanica* é a espécie responsável por maiores prejuízos na cultura da soja, cuja ocorrência é generalizada especialmente no Brasil Central (ASMUS, 2001).

A importância econômica do gênero *Meloidogyne*, está diretamente relacionada ao fato deste apresentar ampla distribuição geográfica, com ocorrência registrada em quase todos os países do mundo, parasitar extensa gama de plantas hospedeiras, interagir com fungos, bactérias, vírus e outros nematoides nas doenças do tipo complexas, ser de difícil controle (SASSER, 1980) e ainda por apresentar variabilidade fisiológica dentro da uma mesma espécie em virtude da habilidade de parasitar diferentes plantas hospedeiras (MANZOTTE et al., 2002; CARNEIRO et al., 2003). Tais características constituem uma séria limitação à adoção de medidas de controle, particularmente a rotação de culturas (MANZOTTE et al., 2002).

Quando detectada a presença de nematoides em uma área de cultivo, devem ser adotadas medidas associadas de manejo, de forma a manter a população abaixo do nível de dano econômico, pois, não existe uma maneira de erradicá-lo completamente e uma única medida de manejo pode não ser eficaz.

Nas áreas infestadas por nematoides, a adoção de práticas que induzam a redução populacional no solo permite que a próxima cultura se estabeleça e complete o seu crescimento inicial, antes de ser severamente afetada (BRIDGE, 1996). Neste contexto, para o manejo de fitonematoides devem-se considerar os diferentes aspectos do desenvolvimento da cultura associado as práticas que visem diminuir os danos, procurando interromper a dispersão e acompanhar o desenvolvimento populacional do nematoide (INOMOTO et al., 2007).

Dentre as estratégias de manejo, a rotação de culturas constitui uma prática eficaz para controlar nematoides em sistemas agrícolas com baixo uso de insumos, porém, são raros os casos em que são utilizadas exclusivamente com esse objetivo (BRIDGE, 1996). Segundo o mesmo autor, o esquema da rotação deve envolver plantas hospedeiras pouco favoráveis, não hospedeiras, tolerantes ou resistentes.

A utilização de resistência genética é, sem dúvida, uma das alternativas mais desejáveis, considerando sua compatibilidade com outras práticas de manejo, por não ser prejudicial ao meio ambiente, não requerer equipamentos especiais para a utilização,

VERSÃO DEFESA

terem o custo na aquisição das sementes similar ao das cultivares suscetíveis, além de constituir alternativa eficaz e econômica (SILVA, 2001; RITZINGER e FANCELLI, 2006; FERREIRA et al., 2009). Porém, para grande parte das doenças, ou inexistem cultivares resistentes, ou o seu número é limitado e ainda as que apresentam resistência pode não conter as características agronômicas desejáveis (GOULART et al., 1998; RITZINGER e FANCELLI, 2006). Assim, a manutenção das doenças, ao nível de convivência econômica, depende da ação multidisciplinar, em que a resistência genética deve ser parte de um sistema integrado de manejo da cultura (GOULART et al., 1998).

A utilização a nível comercial de nematicidas teve início por volta de 1945 (JOHNSON, 1985), utilizados principalmente para reduzir as densidades populacionais abaixo dos níveis prejudiciais. Seu uso promoveu a demonstração do dano potencial que os nematoides parasitas de plantas causavam às lavouras (SCHMITT, 1985).

Conforme Suassuna et al. (2006), o controle químico, forma muitas vezes utilizada para o controle de fitonematoides, tem sido realizado com até 60% de insucesso nos Estados Unidos, devido à alta solubilidade que a maioria dos produtos apresentam, aliada a diferentes regimes pluviométricos e texturas de solo, além das sérias restrições ambientais que envolvem o uso dessas moléculas, em função da sua alta solubilidade em água e elevada toxidez.

Apenas em tempos relativamente recentes, os perigos associados à fabricação e uso desses produtos têm se tornado aparentes. Isso resultou em restrições de utilização e, por vezes, a retirada do mercado. Contudo, observa-se que os nematicidas tradicionais estão em desuso e acredita-se que o manejo de nematoides com produtos químicos sintéticos, com ampla atividade biocida, esteja em declínio (GOWEN, 1992).

Considerando o impacto ambiental causado pelos nematicidas disponíveis atualmente no mercado, porém utilizando o seu benefício no controle de nematoides, o tratamento de sementes, por aliar essas duas características, além da facilidade e menor custo de aplicação, surge como uma opção em adição às estratégias de manejo disponíveis, podendo, inclusive, garantir o estabelecimento inicial da cultura em solos infestados.

A utilização de tratamentos de sementes é uma alternativa atrativa para controle de nematoides, uma vez que requer menores quantidades de insumos químicos em comparação a aplicações de nematicidas em grande escala à campo, reduzindo o impacto ambiental e os custos de investimento. O tratamento químico de sementes

VERSÃO DEFESA

encontra-se ativo apenas na região da rizosfera, no sistema radicular das plantas jovens e, portanto, reduz o risco de acumulação no ambiente (CABRERA et al., 2009).

Segundo Cabrera et al. (2009), a quantidade de ingrediente ativo necessária para o tratamento de uma semente é inferior em relação a utilização de nematicidas em formulações líquidas ou granulares, além de ser mais seguro de manusear, especialmente em áreas onde estes são incorporados ao solo, e ainda, sua utilização reduz diretamente o alto custo associado com todas as outras formas de aplicação.

Grigolli e Asmus (2014) afirmam que até o momento não há evidências científicas de nematicidas com potencial de reduzir significativamente a população de nematoides no campo a ponto de eliminar a rotação de culturas, entretanto alguns produtos aplicados em tratamento de sementes apresentam efeito supressor no início do desenvolvimento da cultura e, em muitos casos, promovem a redução das perdas de produção.

Considerando-se a importância da cultura da soja e dos danos causados por estes patógenos, especialmente *M. javanica*, aliada à ausência de medidas eficazes de controle, torna-se necessário o estudo de outras técnicas para serem somadas ao manejo tradicional de nematoides.

Nesse sentido, objetivou-se no presente trabalho, avaliar a influência do tratamento de sementes de soja sobre a infectividade e a morfogênese de juvenis de *M. javanica*, verificar o efeito destes sobre a produtividade e demais características agronômicas da soja, na presença e ausência do patógeno, bem como o efeito direto do tratamento de sementes sobre a infectividade de juvenis, sob diferentes formas de exposição de ovos de *M. javanica* aos produtos, em condições ambientais controladas.

VERSÃO DEFESA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASMUS, G. L. Danos causados à cultura da soja por nematoides do gênero *Meloidogyne.* In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina, Embrapa Soja: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 39-62, 2001.

ATILANO, R.A.; MENGE, J.A.; VAN GUNDY, S.D. Interaction between *Meloidogyne arenaria* and *Glomus fasciculatus* in grape. **Journal of Nematology,** v. 13, n. 1, p.52-59, 1981.

BRIDGE, J. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, p. 201-225, 1996.

CABRERA, J. A.; KIEWNICK, S.; GRIMM, C.; DABABAT, A. A.; SIKORA, R. A. Efficacy of abamectin seed treatment on *Pratylenchus zeae*, *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schachtii.* **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n. 3, p. 124-128, 2009.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; NEVES, D. I.; ALMEIDA, M. R. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no estado do Paraná. **Nematologia Brasileira,** v. 27, n. 2, p. 219-221, 2003.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acomp. safra bras. grãos**, v. 3 - Safra 2015/16, n. 4 – Quarto levantamento, jan. 2016. Brasília-DF, 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_01_12_14_17_16_boletim_graos_janeiro_2016.pdf>. Acesso em: 09 jan. 2016.

DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S. **Nematoides em soja: identificação e controle**. Londrina, PR: EMBRAPA Soja, 2010. 8p. (Circular Técnica, 76).

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de Produção de Soja -** Região Central do Brasil 2012 e 2013. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2011. 261p. (Sistemas de Produção, 15).

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginose da soja**. Londrina, Embrapa Soja: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 15-34, 2001.

FERREIRA, A. D; ROCHA, M. R.; BARBOSA, K. A. G.; ALVES, T. G.; SANTOS, L. C.; TEIXEIRA, R. A.; MACHADO, A. S. Reação de cultivares de soja a *Pratylenchus brachyurus* em área naturalmente infestada. In: INTERNATIONAL CONGRESSO OF TROPICAL NEMATOLOGY, 2., **Resumos...** Maceió, AL. 2009. p. 311.

GOULART, A. C.; OLIVEIRA, L. J.; GASSEN, D. N.; ÁVILA, C. J.; DEGRANDE, P. E. Manejo de pragas. In.: SALTON, J. C.; HERNANI, L. C.; FONTES, C. Z. **Sistema de plantio direto**. Brasília: Embrapa – SPI; Dourados: Embrapa-CPAO, p.195-206, 1998.

VERSÃO DEFESA

GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematóides-das-lesões-radiculares (gênero *Pratylenchus*).** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008, 27p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 219).

GOWEN, S. R. Chemical control of nematodes: efficiency and side-effects. In: MAQBOOL, M. A.; KERRY, B. (Eds.). **Plant nematode problems and their control in the Near East Region** (FAO Plant Production and Protection Paper - 144), 1992. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/v9978e/v9978e08.htm>. Acesso em: 06 Mar. 2016.

GRIGOLLI, J. F. J; ASMUS, G. L. Manejo de nematoides na cultura da soja. In: LOURENÇÃO, A. L. F.; GRIGOLLI, J. F. J.; MELOTTO, A. M.; PITOL, C.; GITTI, D. C.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: Soja 2013/2014**. Curitiba: Midiograf, p. 194-203, 2014.

INOMOTO, M. M.; MACHADO, A. C. Z.; ANTEDOMÊNICO, S. R. Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p.341-344, 2007.

JOHNSON, A. W. The role of nematicides in nematode management. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne* –** Biology and Control, v. 1. Raleigh, North Carolina, 1985, p. 249-267.

MANZOTE, U.; DIAS, W. P.; MENDES, M. L.; SILVA, J. F. V.; GOMES, J. Reação de híbridos de milho a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p.105-108, 2002.

MATTOS, J. K. A.; HUANG, S. P.; PIMENTEL, C. M. R. M. Grupos tróficos da comunidade de nematoides do solo em oito sistemas de uso da terra nos cerrados do Brasil central. **Nematologia Brasileira,** v. 30, n. 3, p.267-273, 2006.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p.331-338, 2006.

SASSER, J.N. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. **Plant Disease**, v. 64, p.36-41, 1980.

SCHMITT, D. P. Preliminary and advanced evaluation of nematicides. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. **An advanced treatise on *Meloidogyne* –** Biology and Control, v. 1. Raleigh, North Carolina, 1985, p. 241-248.

SILVA, J. F. V. Resistência Genética de soja a nematóides do Gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina, Embrapa Soja: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 95-127. 2001.

SUASSUNA, N. D.; CHITARRA, L. G.; ASMUS, G. L.; INOMOTO, M. M. **Manejo de doenças do algodoeiro**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2006. 24p. (Circular Técnica, 97).

VERSÃO DEFESA

YEATES, G.W.; BONGERS, T.; GOEDE, R.G.M.; FRECKMAN, D.W.; GEORGIEVA, S.S. Feeding habits in soil nematode families and genera – an outline for soil ecologists. **Journal of Nematology**, v. 25, n. 3, p. 315- 331, 1993.

VERSÃO DEFESA

CAPÍTULO I

TRATAMENTO DE SEMENTES NO DESEMPENHO A CAMPO DA CULTIVAR DE SOJA BMX Magna RR (DON MARIO 7.0i) EM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE *Meloidogyne javanica*

RESUMO: Objetivou-se com esse trabalho avaliar a influência do tratamento de sementes de soja sobre a infectividade e a morfogênese de juvenis de *M. javanica* e verificar o efeito destes sobre a produtividade e demais características agronômicas da soja, na presença e ausência do patógeno a campo. Foram conduzidos dois experimentos simultâneos a campo na safra 2013/2014 em duas áreas distintas na Fazenda Experimental da UFGD, sendo um deles em presença e outro em ausência do nematoide, ambos irrigados e em delineamento de blocos casualizados com seis tratamentos e cinco repetições. Como tratamento utilizou-se sementes da cv. BMX Magna RR tratadas com agrotóxicos, sendo quatro de natureza química (Avicta Completo®, CropStar®, Standak Top® e Poncho®) e um microbiológico (VOTiVO®), além da testemunha tratada com água. No experimento em presença do patógeno, imediatamente após a semeadura realizou-se a infestação artificial com ovos do nematoide. Aos 13 DAS verificou-se menor infectividade de juvenis com o tratamento CropStar® e aos 45 DAS com o tratamento Standak Top®. Para as demais variáveis avaliadas relativas ao nematoide (J3+J4 g^{-1}, fêmeas g^{-1} e nematoides total g^{-1}), não observaram-se diferenças entre os tratamentos, indicando que não haver efeitos destes sobre a morfogênese de *M. javanica.* As médias de todas as componentes de produção avaliadas foram superiores em ausência de *M. javanica*, enquanto que a maior produtividade foi verificada no tratamento com Poncho em ausência do patógeno. Não houve diferença entre tratamentos de sementes para as componentes de produção em presença de *M. javanica*.

Palavras-chave: Nematoide das galhas, *Glycine max*, controle químico, morfogênese, nematicidas

VERSÃO DEFESA

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merril) é a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde atualmente a 49% da área plantada com grãos no País (CONAB, 2016). A cultura possui relevante importância, pois além de ser responsável pela geração de divisas, devido a sua grande participação nas exportações brasileiras, trata-se de um grão muito versátil que dá origem a diversos produtos utilizados pela agroindústria, indústria química e de alimentos (OLIVEIRA et al., 2005).

Entre os principais fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos em soja estão as doenças. Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram identificadas no Brasil (EMBRAPA, 2011).

O parasitismo por nematoides integram os fatores que podem interferir na produção de soja, podendo ocasionar grandes perdas econômicas (YORINORI, 2000). Neste sentido, três espécies de nematoides das galhas apresentam maiores prejuízos para as culturas anuais no Brasil: *Meloidogyne incognita* (KOFOID & WHITE, 1919) CHITWOOD, 1949, *M. arenaria* (NEAL, 1989) CHITWOOD, 1949 e *M. javanica* (TREUB, 1885) CHITWOOD, 1949, esta última, considerada a mais importante, pelas perdas causadas em extensas áreas cultivadas com soja, em diversas regiões do país (INOMOTO et al., 2008).

O ciclo de vida de *Meloidogyne* inicia-se com a fêmea adulta depositando seus ovos no interior de uma substância gelatinosa, formando ootecas, que congregam em média 400 a 500 ovos. Do desenvolvimento embrionário resulta um juvenil de primeiro estádio (J1) que passa por uma ecdise ainda no interior do ovo dando origem a um juvenil de segundo estádio (J2). Quando liberadas dos ovos, as formas J2 migram pelo solo em direção às raízes de plantas hospedeiras, guiadas pelos exsudatos radicuares. Ao ingressarem o sistema radicular, estabelecem o seu sítio de alimentação, com formação de células gigantes (TAYLOR e SASSER, 1983; LORDELLO, 1988).

Uma vez no sítio de alimentação, inicia-se a fase sedentária e o nematoide passa pela segunda (J2 > J3), terceira (J3 > J4) e quarta (J4 > fêmea jovem) ecdises (EISENBACK e TRIANTAPHYLLOU, 1991). As células adjacentes às células gigantes sofrem distúrbio hormonal (hiperauxina), levando à hiperplasia e hipertrofia de células, dando origem às galhas que correspondem ao principal sintoma causado pelas espécies do gênero (LORDELLO, 1988).

VERSÃO DEFESA

As galhas formadas pelo patógeno no sistema radicular impedem a absorção e transporte de água e nutrientes do solo, provocando deficiência mineral e perda de produtividade que podem variar de 25 a 85% (MENDES e RODRIGUEZ, 2000).

O J2 de *Meloidogyne* spp. desempenha papel importante no ciclo de vida deste patógeno, por constituir a fase infectiva. Inicialmente dentro do ovo o J2 pode sobreviver sob condições inadequadas à relação nematoide-planta. Após a eclosão movimenta-se pelo solo, penetra nas raízes e exerce o parasitismo na planta (AGRIOS, 1997). O J2, portanto, vive em três ambientes bem distintos: dentro do ovo, no solo e na planta. No solo, passa por condições variáveis de temperatura e umidade (VAN GUNDY, 1985). A temperatura é um fator que tem proporcionado maior influência na capacidade de penetração, desenvolvimento e reprodução de várias espécies de *Meloidogyne* (BERGESSON, 1959; THOMASON et al., 1964; VAN GUNDY, 1985).

Em condições ambientais favoráveis de temperatura (25° a 30°C), umidade do solo e hospedeiro favorável, o ciclo de vida de nematoides de gênero *Meloidogyne* varia em torno de três a quatro semanas (LORDELLO, 1988; TIHOHOD, 2000; FERRAZ, 2001; CAMPOS et al., 2011), ocorrendo desta forma, vários ciclos do patógeno em uma única época de cultivo de soja.

Estudos sobre o efeito de variações ambientais na infectividade e morfogênese de juvenis de fitonematoides encontram-se disponíveis (VAN GUNDY, 1985; CAMPOS et al., 2011). Entretanto, pesquisas a respeito da influência de produtos químicos sobre esses caracteres são escassos. Compostos que de alguma forma promovam um atraso no desenvolvimento do nematoide, podem contribuir significativamente na redução dos níveis populacionais durante o cultivo, logo, reduzindo o inóculo inicial para a cultura subsequente.

Os patógenos de solo, normalmente, são os mais difíceis de controlar e os nematoides de galha apresentam dificuldades particulares devido, dentre outras características, a sua ampla gama de hospedeiros, ciclo de vida curto, alta taxa de reprodução e sua natureza endoparasita (SHARON et al., 2007; AFFOKPON et al., 2011).

Na prática, o controle químico de pragas e doenças ainda é o método mais difundido e utilizado atualmente. Para nematoides, produtos químicos a base de aldicarbe, abamectina e tiodicarbe, em dosagens e modos de aplicação diferenciados, têm sido utilizados com relativo sucesso no controle de nematoides (PAIVA e

VERSÃO DEFESA

TANAKA, 1986; JAHEN e KIMOTO, 1995; MONFORT et al., 2006; NUNES et al., 2010; KUBO et al.,2012).

Entretanto, do ponto de vista ambiental, o controle químico de nematoides envolvem o uso de alguns produtos, cujas moléculas apresentam alta solubilidade e mobilidade no solo e ainda elevada toxidez (GOWEN, 1992; SUASSUNA et al., 2006) produzindo sérios riscos de contaminação ao meio ambiente, inclusive de águas subterrâneas.

Apenas em tempos relativamente recentes os perigos associados à fabricação e uso dessas moléculas têm se tornado aparentes. Isso resultou em restrições de utilização e, por vezes, a retirada do mercado. Contudo, observa-se que os fumigantes e nematicidas tradicionais estão em desuso e o manejo de nematoides com produtos químicos sintéticos, com ampla atividade biocida, encontra-se em declínio (GOWEN, 1992).

Algumas alternativas de controle têm sido estudadas no sentido de subsidiar os agricultores no manejo mais seguro de suas lavouras. Dessa forma, o controle com nematicidas, via tratamento de sementes, pode ser uma alternativa muito mais segura sob os aspectos toxicológicos e ambientais e com maior viabilidade técnica e econômica para o produtor.

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivos avaliar a influência do tratamento de sementes de soja sobre a infectividade e a morfogênese de juvenis de *M. javanica* e verificar o efeito destes, sobre a produtividade e demais características agronômicas da soja, na presença e ausência do patógeno.

VERSÃO DEFESA

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram instalados simultaneamente na safra 2013/14, em duas áreas distintas na Fazenda Experimental de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (FAECA - UFGD), no município de Dourados – MS, com latitude 22°13’16” S, longitude de 54°48’2” W e altitude de 430 metros. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é o tipo Cwa (mesotérmico úmido, com verão chuvoso) e o solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico (SANTOS et al., 2013) de textura argilosa, cujos atributos químicos encontram-se detalhados no quadro 1.

QUADRO 1. Atributos químicos do solo, determinados em amostras coletadas na camada 0-20 cm na FAECA - UFGD, antes da implantação dos experimentos, nas duas áreas experimentais. Dourados – MS, 2013

pH	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
H_2O	mg dm^{-3}	.....	.....	.....	$cmol_c$ dm^{-3}	.....	.....	.....	(%)
				Área do experimento com nematoide					
6,0	3,1	0,38	0,0	5,7	2,0	4,6	8,13	12,8	64
				Área do experimento sem nematoide					
6,1	14,6	0,44	0,0	5,3	2,0	3,9	7,69	11,6	66

Análise realizada pelo Laboratório de Fertilidade do Solo da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados – MS.

A área do ensaio sem nematoide havia sido cultivada com milho na safra anterior, enquanto que a do ensaio com nematoide continha basicamente gramíneas forrageiras, (*Panicum* spp. e *Brachiaria* spp.), sendo que esta não estava sendo utilizada para experimentos. Assim, antes do preparo do solo a área foi roçada com o uso de roçadeira e posteriormente ambas as áreas foram submetidas a uma aração e duas gradagens niveladoras para destorroamento e incorporação dos restos culturais, momento em que foram coletadas as amostras de solo para as análises de fertilidade e prévia de nematoides.

Para a análise prévia de nematoides foram coletadas um total de quinze amostras, constituindo três amostras compostas por cinco subamostras para cada experimento. No Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da UFGD, as amostras foram processadas pelo método do peneiramento e flutuação centrífuga em

VERSÃO DEFESA

solução de sacarose (JENKINS, 1964). Para a identificação e quantificação dos referidos organismos, as amostras foram avolumadas em provetas de 10mL e homogeneizadas, retirando-se uma alíquota de 1 mL, a qual foi depositada em lâmina de contagem de Peters e observada em microscópio óptico binocular. Como era esperado, em razão da ausência de histórico de problemas relacionados a fitonematoides nas referidas áreas, não foi detectada a presença de espécies de nematoides parasitas de soja nas amostras.

As variações climáticas no decorrer dos ensaios estão presentes na Figura 1, cujos dados foram obtidos da Estação Meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste para região de Dourados, MS.

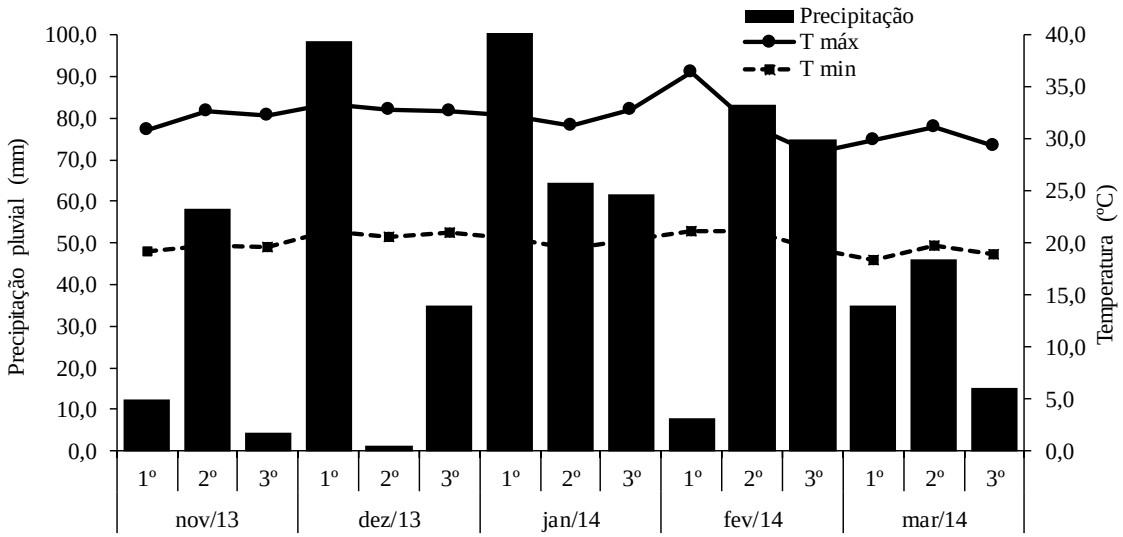

FIGURA 1. Precipitação pluvial, temperaturas máximas e mínimas por decêndio no período de novembro de 2013 a março de 2014. Dourados, MS.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, constituído de seis tratamentos e cinco repetições. As parcelas constaram de cinco linhas com cinco metros de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,45m, totalizando 11,25m². Ambas áreas experimentais contaram com sistema de irrigação por aspersão, sendo primeiramente semeado o ensaio em ausência de *M. javanica* e o ensaio em presença do patógeno semeado na sequência.

Considerou-se como área útil da parcela as três linhas centrais, desprezando-se 0,5m de cada extremidade, perfazendo 5,4m². De acordo com a análise do solo, não houve a necessidade de calagem e a adubação de base foi realizada com fertilizante químico na formulação 4-20-20 na dose de 300 kg ha^{-1} depositado na linha de

semeadura. Tanto a adubação quanto a abertura do sulco de semeadura foram realizados de forma mecanizada.

Os tratamentos foram constituídos por sementes de soja (*Glycine max* L.) da cultivar BMX Magna RR (Don Mario 7.0i), tratadas agrotóxicos, sendo quatro produtos de natureza química e um microbiológico. Os nomes comerciais dos produtos, os ingredientes ativos e as doses utilizadas encontram-se descritos no Quadro 2. Como testemunha, foram utilizadas sementes da mesma cultivar tratadas com água, na dose de 600 mL 100 kg^{-1} de sementes, perfazendo um total de seis tratamentos. Em todos os tratamentos, adicionou-se água destilada até completar o volume de 600 mL 100 kg^{-1} de sementes, para assegurar que as sementes recebessem o mesmo volume de líquido, entre os tratamentos.

QUADRO 2. Produtos, ingredientes ativos e doses utilizados no tratamento de sementes de soja para os experimentos

Produto Comercial	**Ingrediente ativo**	**Dose p.c. (mL 100 kg^{-1} sementes)**
Avicta Completo®	Abamectina + Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil-M	(*)
Poncho®	Clotianidina	100
VOTiVO®	*Bacillus firmus*	70
Standak Top®	Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato-metílico	200
CropStar®	Imidacloprido + Tiodicarbe	600

(*) Avicta Completo®: Avicta® (Abamectina 500 g L^{-1}) + Cruiser® (Thiamethoxam 350 g L^{-1}) + Maxim XL® (Fludioxonil 25 g L^{-1} + Metalaxil-M 10 g L^{-1}), nas doses de 100, 200 e 100 mL p.c. 100 kg^{-1} sementes, respectivamente.

Após o preparo da área experimental, as sementes tratadas e inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* em meio líquido (4 mL de inoculante por 1 kg de semente), foram semeadas em 30/11/2013 em sistema de plantio convencional, utilizando semeadora manual Knapik®, a qual foi adaptada retirando-se os discos duplos para incorporar sementes e as rodas para fechamento do sulco, cuja ação foi realizada manualmente após a semeadura de cada experimento, com o intuito de verificar e

VERSÃO DEFESA

corrigir, caso necessário, a distribuição das sementes assegurando a uniformidade do estande.

A população de plantas foi ajustada, conforme recomendado para a cultivar, em 350.000 plantas ha^{-1} acrescida de 10% em função da época de semeadura, resultando na densidade de 18 sementes por metro linear, totalizando 90 plantas por linha.

A população de *M. javanica* utilizada no experimento, obtida de área naturalmente infestada, foi purificada e multiplicada em tomateiro (*Solanum lycopersicum* 'Santa Clara') em vasos com capacidade para 5000 mL, contendo como substrato uma mistura de solo + areia grossa + substrato comercial (1:1:1) autoclavado e mantidos em casa de vegetação. Para obtenção dos ovos, as raízes foram lavadas e trituradas em liquidificador em meio a uma solução de hipoclorito de sódio 0,5% conforme metodologia proposta por Bonetti e Ferraz (1981).

Para a infestação do solo pesou-se 1 kg de uma mistura de solo + areia (1:1) acondicionando-os individualmente em sacos plásticos com capacidade para 5 kg. Após o processamento das raízes de tomateiro para a extração dos ovos de *M. javanica*, a suspensão obtida foi calibrada numa concentração de 36.000 ovos mL^{-1}, sendo que cada quilograma de solo recebeu 20 mL da suspensão, correspondendo a 720.000 ovos kg^{-1} de solo equivalente a 8.000 ovos $planta^{-1}$. Para assegurar a homogeneidade da suspensão, esta foi mantida em agitação constante com o auxílio de uma bomba de vácuo.

Após acrescentar a suspensão ao solo, o saco plástico foi preenchido com ar e o período de agitação foi padronizado em um minuto. O procedimento de infestação foi realizado por cinco pessoas ao mesmo tempo, sendo que cada pessoa infestou o solo correspondente ao inóculo de um bloco do experimento e uma única pessoa foi responsável pela pipetagem da suspensão. Posteriormente, o solo infestado foi mantido em sala climatizada em uma temperatura de aproximadamente 18°C por um período de seis horas até o momento de serem levados ao campo.

Apenas para o experimento em presença de *M. javanica*, as sementes foram depositadas no sulco e mantidas descobertas até a finalização da semeadura de toda a área experimental. Posteriormente, procedeu-se a infestação das parcelas, sendo depositado sobre as sementes um quilograma de solo infestado por linha, somente nas três linhas centrais de cada parcela e na sequência o sulco de semeadura foi fechado manualmente. A infestação foi realizada no final da tarde, em razão da menor

VERSÃO DEFESA

temperatura do solo neste período, por cinco pessoas sendo uma para cada bloco e uma única pessoa foi responsável em cortar a lateral dos sacos plásticos, contendo o solo infestado, todos do mesmo tamanho (1,5 cm), assegurando a padronização da vazão para que o conteúdo fosse suficiente para infestar toda a linha de semeadura.

Imediatamente após a infestação das parcelas, ambos experimentos receberam o equivalente a 10 mm de irrigação, para garantir a umidade do solo necessária para evitar a dessecação dos ovos recém inoculados no experimento em presença de *M. javanica*.

Todos os tratos culturais, tais como aplicações de herbicidas, inseticidas e fungicidas foram realizados conforme a necessidade no decorrer do período de execução dos ensaios e conduzidos da mesma maneira para ambos experimentos.

Aos 13 dias após a semeadura (DAS), realizou-se o desbaste para o ajuste da população de plantas, separando-se cinco plantas desbastadas de cada parcela, as quais foram submetidas ao método de coloração de nematoides em tecidos vegetais com fucsina ácida (BIRD et al., 1983), método este que permite a quantificação de espécimes que efetivamente infectaram as raízes.

Após este processo, as mesmas foram armazenadas individualmente em frascos de acrílico contendo glicerina acidificada com HCl 5N, posteriormente, realizou-se a quantificação dos nematoides em microscópio óptico binocular, através do seccionamento do sistema radicular e disposição destes em fileiras entre lâminas de vidro, com dimensões de 20 x 7cm, preenchidas por glicerina.

Aos 45 DAS, cinco plantas da área útil de cada parcela, de ambos experimentos, foram mensuradas, coletadas e levadas ao Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia de Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), onde foram seccionadas separando-se a parte aérea do sistema radicular.

A parte aérea das plantas foram pesadas e acondicionadas individualmente em sacos de papel e deixadas em estufa a 60±5ºC, por 72 horas. Após esse período, as amostras foram novamente pesadas, determinando-se a matéria seca da parte aérea.

Os sistemas radiculares das plantas oriundas do experimento em presença do nematoide foram lavadas em água corrente e após secarem sobre papel jornal por aproximadamente 20 minutos, foram pesadas e submetidas ao método de coloração (BIRD et al., 1983) sendo armazenadas e quantificadas, conforme descrito anteriormente.

VERSÃO DEFESA

Quantificou-se o número de J2, o número de J3 + J4 conjuntamente, o número de fêmeas por sistema radicular, cuja soma resultou no total de nematoides da amostra. Todas essas variáveis foram divididas pelo peso (g) das suas respectivas raízes, obtendo-se assim o número de J2 g^{-1}, J3+J4 g^{-1}, fêmeas g^{-1} e nematoides total g^{-1}.

Aos 90 DAS, dez plantas da área útil de cada parcela foram mensuradas e aos 119 DAS, foi avaliada a produtividade nos 5,4 m^2 centrais da parcela, quantificando-se a massa de mil grãos (g) e o rendimento (kg ha^{-1}). Para tanto, as plantas foram colhidas manualmente em cada parcela e posteriormente trilhadas. A massa de mil grãos foi obtida através da pesagem de três sub-amostras de 1000 grãos cada, enquanto que a produtividade foi mensurada pela pesagem dos grãos colhidos de cada parcela. O teor de umidade dos grãos foi aferido a partir de três sub-amostras com auxílio de um medidor de umidade de grãos "GEHAKA G600i", realizando-se a correção da umidade para 13% e a conversão do peso dos grãos colhidos em kg ha^{-1}.

Nas análises estatísticas, para verificar a normalidade dos dados, foi utilizado o teste de Lilliefors e para as variáveis onde não se confirmou a distribuição normal, estes foram transformados em raiz quadrada (x+1). Os dados foram então submetidos à análise de variância e quando detectado efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste DMS-t a 5% de probabilidade, usando o programa computacional Genes (CRUZ, 2006).

VERSÃO DEFESA

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos experimentos conduzidos a campo, houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis número de juvenis de segundo estádio por grama de raízes (J2 g^{-1}) aos 13 e aos 45 dias após a semeadura (DAS) no experimento conduzido na área com nematoide. Para o experimento em ausência do nematoide os efeitos significativos foram observados nas variáveis, massa de mil grãos, produtividade e altura de plantas aos 45 DAS (Quadro 3).

QUADRO 3. Resumo das análises de variância em função dos tratamentos de sementes de soja, em dois experimentos simultâneos conduzidos à campo em presença e ausência de *Meloidogyne javanica*, na safra 2013/2014. Dourados – MS

Fontes de Variação	Quadrados médios			
	Blocos	Tratamentos	CV (%)	Média geral
	Experimento em presença do nematoide			
J2 g^{-1} aos 13 DAS	$186,780^{ns}$	448,370*	54,94	7,13
J2 g^{-1} aos 45 DAS	$4,594^{ns}$	6,469*	35,01	1,65
J3 + J4 g^{-1} aos 45 DAS	$31,258^{ns}$	$6,422^{ns}$	30,49	5,20
Fêmea g^{-1} aos 45 DAS	$140,300^{ns}$	$39,188^{ns}$	21,95	14,07
Nematoides total g^{-1} aos 45DAS	$298,661^{ns}$	$60,656^{ns}$	18,90	20,92
Massa de mil grãos (g)	$155,556^{ns}$	$26,017^{ns}$	3,70	129,70
Produtividade (kg ha^{-1})	$181216,284^{ns}$	$63149,956^{ns}$	14,87	2868,53
Peso seco da parte aérea	$87,107^{ns}$	$23,600^{ns}$	20,51	32,90
Altura 45 DAS	$23,184^{ns}$	$14,147^{ns}$	11,80	47,64
Altura 90 DAS	$31,293^{ns}$	$23,700^{ns}$	8,94	73,29
	Experimento em ausência do nematoide			
Massa de mil grãos (g)	$34,979^{ns}$	29,433*	3,35	137,53
Produtividade (kg ha^{-1})	$158199,730^{ns}$	49203,610*	6,43	3302,13
Peso seco da parte aérea	$2,735^{ns}$	$11,695^{ns}$	16,12	51,86
Altura 45 DAS	$49,311^{ns}$	46,546*	8,21	57,29
Altura 90 DAS	$38,321^{ns}$	$8,716^{ns}$	3,30	85,62

* - significativo pelo teste F a 5% de probabilidade. ^{ns} - não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade. DAS – Dias após a semeadura.

VERSÃO DEFESA

Aos 13 DAS foram observados, no sistema radicular da soja, apenas juvenis de segundo estádio (J2). Nesta avaliação realizada no experimento conduzido na área com nematoide, verificou-se que a testemunha apresentou a maior média de J2 g^{-1} (25,6), diferindo estatisticamente dos tratamentos Poncho®, VOTiVO®, Standak Top® e CropStar® cujas médias variaram de 5,0 a 0,8 J2 g^{-1}, produzindo as menores taxas de infectividade de juvenis. Dentre os produtos utilizados no tratamento de sementes, o nematicida Avicta Completo® não diferiu da testemunha no período avaliado, entretanto a taxa de penetração do nematoide também foi considerada baixa (8,2 J2 g^{-1}) diferindo apenas do produto CropStar® (Figura 2).

Na avaliação realizada aos 45 DAS, o processo de coloração dos nematoides no interior das raízes permitiu identificar a presença desde J2 até fêmeas adultas (Quadro 4), entretanto não foi detectada a ocorrência de galhas proeminentes no sistema radicular para nenhum dos tratamentos, inclusive para a testemunha.

Houve diferença apenas para o número de J2 g^{-1} entre a testemunha e o tratamento com o inseticida/fungicida Standak Top®. As demais variáveis avaliadas (J3 + J4, Fêmea e Nematoide total g^{-1} de raízes) mensuram a morfogênese dos juvenis que ingressaram o sistema radicular das plantas e nesse contexto, não detectou-se interação entre os produtos testados no desenvolvimento de *M. javanica*. No entanto, as médias foram relativamente baixas em relação ao período de avaliação (Quadro 4), reflexo da baixa taxa de infectividade dos juvenis oriundos do inóculo inicial, conforme verificado aos 13 DAS, onde pôde-se observar efeito negativo na penetração dos nematoides para a maioria dos produtos testados (Figura 2), porém quando avaliado aos 45 DAS apenas para Standak Top® tais efeitos foram mantidos.

Considerando a população inicial de 8000 ovos $planta^{-1}$, a população de J2 no sistema radicular da soja aos 13 DAS foi baixa entre os tratamentos e até mesmo para a testemunha. Os efeitos verificados na taxa de infectividade dos J2 oriundos do inóculo inicial pode estar relacionado com a infestação da área experimental em que foi conduzido o ensaio em presença de *M. javanica*. O critério foi adotado com o intuito de uniformizar a distribuição do nematoide, haja vista que em área naturalmente infestada esta se dá de forma irregular, ocorrendo em reboleiras, que representa um dos principais sintomas da ocorrência de nematoides à campo. Porém, a introdução artificial, pode interferir negativamente na viabilidade do inóculo, em virtude da exposição a condições ambientais diferentes daquelas em que os nematoides foram multiplicados.

VERSÃO DEFESA

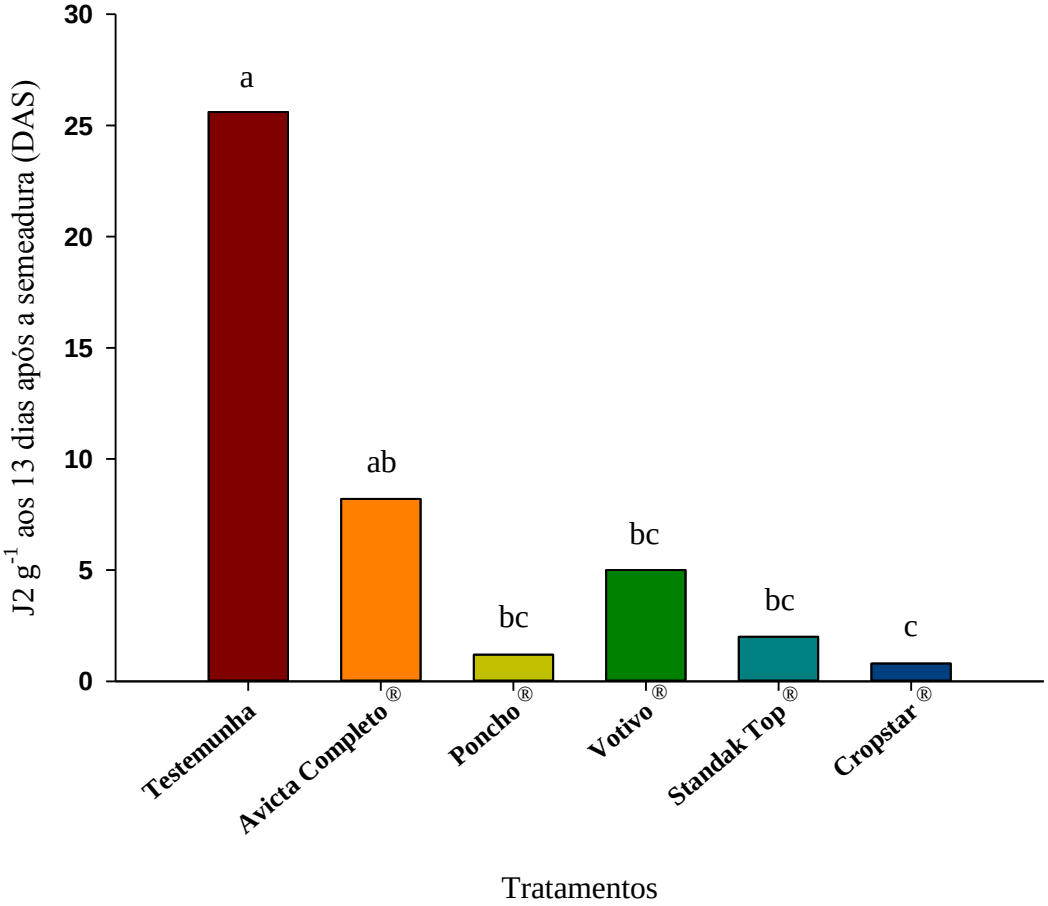

FIGURA 2. Número de juvenis de segundo estádio (J2) por grama de raízes de soja aos 13 dias após a semeadura (DAS) em função dos tratamentos de sementes, no experimento em presença de *M. javanica*. Dourados, 2013/14.

Médias originais. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$.
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (DMS-t; $p \geq 0{,}05$).
Ingredientes ativos dos produtos formulados: **Avicta Completo®**: Abamectina +Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil. **Poncho®**: Clotianidina. **VOTiVO®**: *Bacillus firmus*. **Standak Top®**: Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato-metílico. **CropStar®**: Imidacloprido + Tiodicarbe.

As diferenças significativas observadas aos 13 DAS estão de acordo com as respostas preconizadas pelo tratamento de sementes, cuja aplicação de produtos fitossanitários visa permitir a germinação das sementes, através do controle de insetos e patógenos presentes no solo e/ou na superfície das sementes assegurando uma emergência apropriada e um melhor estabelecimento e desenvolvimento inicial das plantas no campo (NOVEMBRE e MARCOS FILHO, 1991).

QUADRO 4. Número de juvenis de segundo estádio (J2), juvenis de terceiro e quarto estádios conjuntamente (J3 + J4), fêmea e nematoide total por grama de raízes de soja em função dos tratamentos de sementes aos 45 DAS, no experimento em presença de *M. javanica*. Dourados, 2014

Tratamentos	J2 g^{-1}	J3 + J4 g^{-1}	Fêmea g^{-1}	Nematoide total g^{-1}
Testemunha	3,72 a	5,23 a	14,43 a	23,38 a
Avicta Completo®	2,10 ab	5,07 a	15,40 a	22,57 a
Poncho®	1,26 ab	5,38 a	9,24 a	15,89 a
VOTiVO®	1,19 ab	3,36 a	13,51 a	18,06 a
Standak Top®	0,48 b	6,93 a	17,76 a	25,18 a
CropStar®	1,15 ab	5,21 a	14,07 a	20,43 a

Médias originais. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$.
Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si (DMS-t; $p \geq 0,05$).
Ingredientes ativos dos produtos formulados: **Avicta Completo®**: Abamectina +Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil. **Poncho®**: Clotianidina. **VOTiVO®**: *Bacillus firmus*. **Standak Top®**: Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato-metílico. **CropStar®**: Imidacloprido + Tiodicarbe.

O número de J2 de *M. incognita* que ingressaram nas raízes de algodoeiro a partir de sementes tratadas com 100 g de abamectina kg^{-1} de sementes, foi mais baixo durante os primeiros 14 DAS quando comparado com plantas oriundas de sementes não tratadas, verificadas tanto em condições de casa de vegetação, quanto em microparcelas e à campo. Entretanto, quando a densidade populacional foi mensurada aos 21 e 28 DAS e índice de galhas também aos 28 DAS, em condições de campo, não houve diferença significativa nem entre testemunha e as duas doses de abamectina aplicadas via tratamento de sementes (0, 10 e 100g kg^{-1} de sementes) e nem entre estas e os tratamentos com duas doses de aldicarbe (840 e 1,176 g ha^{-1}) no sulco de semeadura (MONFORT et al., 2006).

Kubo et al. (2012) constataram, em experimentos conduzidos em casa de vegetação, que plantas de algodoeiro da cv. IAC 25 oriundas de sementes tratadas com tiodicarbe + imidacloprido e tiodicarbe, reduziram significativamente a população do nematoide *Rotylenchulus reniformis* nas raízes, em relação à testemunha não tratada aos 22 dias após a inoculação (DAI), porém aos 44 DAI tal efeito foi verificado apenas para o tratamento com tiodicarbe.

Por outro lado, Frye (2009) não observou efeito do tratamento de sementes de soja com abamectina e tiodicarbe + imidacloprido sobre o nematoide de cisto da soja *Heterodera glycines* em condições de campo, sugerindo que o efeito dos produtos ou são de curta duração no solo ou não se movem com o sistema radicular. O autor atribui

VERSÃO DEFESA

tais resultados, à rápida germinação (menos de 72 horas após a semeadura) que promoveu a remoção do revestimento da semente para fora do solo, o qual continha a maior parte do produto, expondo-os à possibilidade de degradação por ação dos raios ultravioletas do sol.

Considerando que no período de condução dos experimentos as temperaturas foram favoráveis ao desenvolvimento dos nematoides (Figura 1), boa disponibilidade de água, em virtude do cultivo irrigado e a presença de uma cultivar suscetível, o efeito verificado aos 45 DAS foi sobre J2 oriundos de um segundo ciclo do patógeno.

Desta forma, o Standak Top® apresentou maior efetividade sobre a infecção dos juvenis, em relação aos demais produtos testados. Tal produto é composto por fipronil (inseticida) + piraclostrobina + tiofanato-metílico (ambos fungicidas), desta forma, o resultado observado na redução da infectividade promovida pelo produto está relacionado, provavelmente, com o efeito do composto tiofanato-metílico, já que o fipronil e a piraclostrobina aparentemente não apresentam efeito sobre nematoides.

Ribeiro et al. (2014), avaliando a eficácia do tratamento de sementes de soja no controle de *Pratylenchus brachyurus* em casa de vegetação, também verificaram, dentre outros produtos testados, efeito positivo do Standak Top® na redução das populações do nematoide aos 60 dias após a inoculação, embora não tenham mencionado as possíveis causas relacionadas a esse efeito.

A ausência de efeito direto do fipronil sobre a sobrevivência de juvenis infectantes de três espécies de nematoides entomopatogênicos (*Steinernema carpocapsae*, *S. arenarium* e *Heterorhabditis bacteriophora*), foi verificada após a exposição *in vitro* dos juvenis a quatro diferentes concentrações de fipronil (250, 500, 1000 e 2000 ppm). *Heterorhabditis bacteriophora* e *S. carpocapsae* foram muito tolerantes para todas as concentrações de fipronil, com a mortalidade mais elevada de 17 e 11,25%, respectivamente, observada na concentração de 2000 ppm após 72 horas de exposição. Já *Steinernema arenarium* foi, no entanto, mais sensível ao fipronil e em 2000 ppm, as taxas de mortalidade de 94,6 e 100% foi observada após 24 e 72 horas, respectivamente, entretanto os autores reiteram que essa concentração de 2000 ppm é cerca de 33 vezes maior que a dose recomendada de aplicação no campo (PINO e JOVÉ, 2005).

No mesmo estudo, o fipronil apresentou ainda efeitos negligenciáveis sobre a infectividade das três espécies de nematoides, pois, os juvenis que sobreviveram à

VERSÃO DEFESA

exposição em todas as concentrações testadas infectaram e se reproduziram em larvas de *Galleria mellonella*. Em virtude da ausência de efeito negativo do composto sobre a sobrevivência e infectividade dos nematoides, os autores sugerem que a mistura direta de nematoides entomopatogênicos e fipronil, nas doses recomendadas de campo, é uma opção viável de manejo integrado de pragas (PINO e JOVÉ, 2005).

Evidências sobre o efeito direto da piraclostrobina sobre nematoides não foram observadas na literatura, apenas foram reportados seus efeitos na planta, como indutor de resistência em cana de açúcar sobre *Meloidogyne* spp. em condições de campo. No referido trabalho, tanto a utilização de piraclostrobina (0,5L p.c. ha^{-1}) quanto carbofuran (7,0L p.c. ha^{-1}) e a mistura de ambos produtos nas mesmas doses, promoveram redução na densidade populacional do nematoide em comparação com a testemunha. Entretanto, as maiores médias de produtividade foram observadas no tratamento com piraclostrobina (CHAVES e PEDROSA, 2015).

Por outro lado, efeitos antagônicos do tiofanato-metílico sobre nematoides encontram-se bem relatadas na literatura, através de estudos realizados com compostos da classe dos benzimidazóis. O composto tiofanato-metílico corresponde a um precursor de benzimidazol, uma vez que no solo é rapidamente convertido em carbendazim, compartilhando dessa forma, de um mesmo modo de ação (FLEEKER et al., 1974).

Neste contexto, o efeito anti-helmíntico dos benzimidazóis tem sido verificado tanto sobre nematoides fitoparasitas quanto zooparasitas (McLEOD e KHAIR, 1975; McKELLAR e SCOTT, 1990; MOSER et al., 2004) Jasmer et al. (2000) verificaram vários efeitos letais induzidos por benzimidazol no intestino anterior do nematoide *Haemonchus contortus*. Cavelier et al. (1987), observaram na cultura da batata em condições de campo, que doses a partir de 1 mg L^{-1} populações mais elevadas no solo de *Globodera rostochiensis* e *G. pallida* foram severamente prejudicadas e, a partir de 25 mg L^{-1} houve supressão quase completa das populações.

Hoestra (1976) também menciona o forte efeito de um composto benzimidazol sobre *Heterodera* spp. no campo, associando essas respostas aos efeitos verificados sobre a supressão da eclosão e inibição da penetração nas raízes. Porém, o autor ressalta o efeito negativo do produto sobre organismos não-alvo, dada a sua persistência no solo. No solo, os compostos benzimidazóis apresentam estabilidade relativa (SILVA e MELO, 1997). Fleecker et al. (1974) recuperaram, aos 43 dias, 53 a 78% do carbono marcado (^{14}C) como 2-^{14}C-carbendazim, utilizando tiofanato-metílico.

VERSÃO DEFESA

Diante das evidências mencionadas, é possível afirmar que a redução na infectividade de juvenis de *M. javanica* ora observadas no tratamento com Standak Top® aos 45 DAS, está relacionada à ação do tiofanato-metílico em virtude do seu efeito sobre o patógeno, bem como aos aspectos relacionados ao seu período residual.

As variáveis relacionadas aos componentes de produção da soja, foram avaliadas em ambos experimentos para detectar possíveis efeitos dos tratamentos de sementes sobre determinadas características sob presença e ausência do patógeno (Quadros 5 e 6). Embora tenha sido possível verificar visível diferença numérica para algumas variáveis entre os experimentos, a análise conjunta dos dados, cuja fonte de variação correspondia apenas pela presença de *M. javanica* em um dos experimentos, não foi significativa, isolando o fator nematoide dos resultados observados. Desta forma, os dados dos experimentos foram analisados e apresentados individualmente.

Outros fatores que podem interferir nos componentes de produção, tais como a ocorrência de pragas, doenças e plantas daninhas foram isoladas através de aplicação das de suas respectivas medidas fitossanitárias. A ferrugem asiática da soja, principal doença da cultura não foi identificada nas áreas experimentais, considerando que a incidência da doença foi baixa na safra 2013/2014, com apenas um foco registrado no município de Dourados-MS (CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2014).

No experimento em ausência do nematoide houve significância para a massa de mil grãos, produtividade e altura de plantas aos 45 DAS. A maior média de produtividade foi verificada no tratamento Poncho, que apresentou semelhança com os demais tratamentos, diferindo apenas da testemunha.

Para a massa de mil grãos, o tratamento de sementes com VOTiVO® apresentou médias superiores às observadas na testemunha, enquanto que os demais tratamentos não diferiram entre si e nem entre a testemunha e o VOTiVO®. Para a altura de plantas aos 45 DAS o tratamento com VOTiVO® apresentou a menor média em relação aos demais tratamentos, diferindo significativamente da testemunha, do Poncho e do Standak Top®, porém aos 90 DAS essas diferenças não foram observadas (Quadro 5).

O VOTiVO® é um nematicida microbiológico destinado ao tratamento de sementes, composto por *Bacillus firmus* (TYLKA et al., 2011) O produto não é registrado para utilização e comercialização no Brasil, desta forma, não há na literatura resultados de pesquisas conduzidas nas condições edafoclimáticas brasileiras, quanto ao seu efeito sobre as plantas.

VERSÃO DEFESA

QUADRO 5. Massa de mil grãos, produtividade, peso seco da parte aérea aos 45 dias após a semeadura (DAS) e altura de plantas ao 45 e 90 DAS em função do tratamento de sementes de soja cv. BMX Magna RR, em ausência de *M. javanica* na safra 2013/14. Dourados, MS

Tratamentos	Massa de mil grãos (g)	Produtividade (kg ha^{-1})	Peso seco	Altura 45 DAS	Altura 90 DAS
Testemunha	134,29 b	3154,10 b	51,30 a	59,84 a	86,54 a
Avicta Completo®	137,94 ab	3283,40 ab	51,85 a	55,08 ab	86,18 a
Poncho®	136,53 ab	3450,26 a	51,93 a	60,20 a	87,00 a
VOTiVO®	141,33 a	3296,68 ab	49,47 a	53,08 b	84,20 a
Standak Top®	138,84 ab	3362,53 ab	54,18 a	59,84 a	86,04 a
CropStar®	136,26 ab	3265,80 ab	52,38 a	55,72 ab	83,76 a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si (DMS-t; $p \geq 0,05$).
Ingredientes ativos dos produtos formulados: **Avicta Completo®**: Abamectina +Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil. **Poncho®**: Clotianidina. **VOTiVO®**: *Bacillus firmus*. **Standak Top®**: Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato-metílico. **CropStar®**: Imidacloprido + Tiodicarbe.

QUADRO 6. Massa de mil grãos, produtividade, peso seco da parte aérea aos 45 dias após a semeadura (DAS) e altura de plantas ao 45 e 90 DAS em função do tratamento de sementes de soja cv. BMX Magna RR, em ausência de M. javanica na safra 2013/14. Dourados, MS

Tratamentos	Massa de mil grãos (g)	Produtividade (kg ha^{-1})	Peso seco	Altura 45 DAS	Altura 90 DAS
Testemunha	128,24 a	2903,37 a	32,74 a	47,80 a	72,12 a
Avicta Completo®	128,63 a	2735,10 a	35,59 a	46,48 a	72,30 a
Poncho®	126,64 a	2772,60 a	31,20 a	45,92 a	69,94 a
VOTiVO®	131,97 a	2855,68 a	32,59 a	50,76 a	75,34 a
Standak Top®	132,52 a	3053,64 a	30,06 a	47,40 a	74,94 a
CropStar®	130,19 a	2890,82 a	35,20 a	47,48 a	75,08 a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si (DMS-t; $p \geq 0,05$).
Ingredientes ativos dos produtos formulados: **Avicta Completo®**: Abamectina +Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil. **Poncho®**: Clotianidina. **VOTiVO®**: *Bacillus firmus*. **Standak Top®**: Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato-metílico. **CropStar®**: Imidacloprido + Tiodicarbe.

Entretanto, estudos realizados nos EUA demonstraram que o tratamento de plantas com células puras de *B. firmus* causaram redução de galhas de *Meloidogyne* spp., bem como a estimulação do crescimento das plantas (MENDOZA et al., 2008).

Embora aos 45 DAS plantas oriundas de sementes tratadas com VOTiVO® tenham apresentado menor altura de plantas, o estímulo produzido pelo produto promoveu não somente o crescimento das plantas após esse período, verificado pela ausência de diferença significativa entre os tratamentos na altura de plantas aos 90 DAS,

VERSÃO DEFESA

mas também um incremento na massa de mil grãos observada para esse tratamento (Quadro 5).

As diferenças significativas na produtividade entre os tratamentos observadas neste ensaio, diferem dos resultados observados por Rezende et al. (2003), Conceição et al. (2014) e Brzezinski et al. (2015), onde ao avaliarem o efeito do tratamento em sementes de soja observaram que mesmo havendo efeito significativo do tratamento químico na emergência de plantas em campo o mesmo não foi observado para o rendimento final da cultura.

Balardin et al. (2011) verificaram que o tratamento de sementes com Standak Top® e Avicta Completo® promoveram alterações benéficas em plantas de soja com efeito positivo sobre o rendimento de grãos em presença de estresse hídrico, entretanto, o rendimento de grãos não foi influenciado pelos tratamentos de semente no regime sem estresse hídrico.

Quanto ao experimento em presença de *M. javanica*, nenhuma das variáveis diferiram significativamente entre os tratamentos (Quadro 6), entretanto, as médias gerais de todas as variáveis foram inferiores àquelas obtidas no experimento em ausência do patógeno (Quadro 3) cuja produtividade foi superior à média registrada para o estado de Mato Grosso do Sul na safra 2013/2014 que foi de 3.143 kg ha^{-1} (CONAB, 2013).

Os resultados aqui obtidos foram semelhantes aos observados por Monfort et al. (2006), avaliando altura de plantas, números de nós na haste principal, índice de galhas nas raízes, densidade populacional e rendimento de fibras de algodoeiro submetidos ao tratamento de sementes com abamectina nas concentrações 0, 10, 50, 75 e 100 g por 100 kg de sementes, em área naturalmente infestada por *M. incognita*, não observaram significância entre os tratamentos para todas as variáveis estudadas.

O tratamento de sementes de algodoeiro cv. IAC 25 com tiodicarbe promoveu redução significativa na população de *Rotylenchulus reniformis* no interior do sistema radicular das plantas, em condição de casa de vegetação, aos 22 e 44 dias após a inoculação, em comparação com a testemunha. Entretanto, quando avaliado a altura de plantas e a massa seca da parte aérea nos mesmos períodos, não se verificou efeito significativo para tais variáveis entre todos os tratamentos, inclusive para a testemunha sem nematoide (KUBO et al., 2012).

VERSÃO DEFESA

CONCLUSÃO

O tratamento de sementes com CropStar® apresentou a menor taxa de infectividade de juvenis de *M. javanica* na avaliação aos 13 DAS.

Aos 45 DAS o tratamento com Standak Top® promoveu a menor infectividade de juvenis de *M. javanica*.

Não houve efeito dos produtos testados sobre a morfogênese de *M. javanica* em condições de campo.

As médias de todas as componentes de produção avaliadas para a cv. BMX Magna RR foram superiores em ausência de *M. javanica*.

A maior produtividade foi verificada no tratamento de sementes com Poncho em ausência de *M. javanica*.

Em presença de *M. javanica*, não houve diferença entre tratamentos de sementes para as componentes de produção.

VERSÃO DEFESA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFOKPON, A.; COYNE, D. L.; HTAY, C. C.; AGBÈDÈ, R. D.; LAWOUIN, L.; COOSEMANS, J. Biocontrol potential of native *Trichoderma* isolates against root-knot nematodes in West African vegetable production systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 600–608, 2011.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4 ed. New York: Academic Press, 1997. 635 p.

BALARDIN, R. S.; SILVA, F. D. L.; DEBONA, D.; CORTE, G. D.; FAVERA, D. D.; TORMEN, N. R. Tratamento de sementes com fungicidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.

BERGESON, G. B. The influence of temperature on the survival of some species of the genus *Meloidogyne*, in the absence of a host. **Nematologica**, v. 4, p. 344-354, 1959.

BIRD JR., D. W.; KIRPATRICK, J.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v.15, p.142-143, 1983.

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

BRZEZINSKI, C. R.; HENNING, A. A.; ABATI, J.; HENNING, F. A.; FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; ZUCARELI, C. Seeds treatment times in the establishment and yield performance of soybean crops. **Journal of Sedd Science**, v. 37, n. 2, p. 147-153, 2015.

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; SILVA, J. R. C.; SILVA, L. H. C. P.; COSTA, L. S. S. S.; TERRA, W. C. Atração e penetração de Meloidogyne javanica e Heterodera glycines em raízes excisadas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 9, p. 1496-1502, 2011.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R. Ação de piraclostrobina como indutor de resistência a *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar - parte II: avaliação de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 32., Londrina, 2015. **Anais...** Piracicaba: SBN, 2015. p. 152.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acomp. safra bras. grãos, v. 2 - Safra 2013/14, n. 12 – Décimo segundo levantamento, set. 2014. Brasília-DF, 2015. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_10_14_35_09_boletim_graos_setembro_2014.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2016.

CONCEIÇÃO, G. M.; BARBIERI, A. P. P.; LÚCIO, A. D.; MARTIN, T. N.; MERTZ, L. M.; MATTIONI, N. M.; LORENTZ, L. H. Desempenho de plântulas e produtividade de soja submetida a diferentes tratamentos químicos nas sementes. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1711-1720, 2014

VERSÃO DEFESA

CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM. Parceria público-privada no combate à ferrugem asiática da soja. 2014. Dispoível em: < http://www.consorcioantiferrugem.net/portal/>. Acesso em: 10 jun. 2016.

CRUZ, C. D. **Programa genes**: estatística experimental e matrizes. EDITORA UFV. Viçosa, MG. 285p. 2006.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot nematode: Meloidogyne spp. and races. In: NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York, NY, 1991. p. 191-274.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginose da soja**. Londrina, Embrapa Soja: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 15-34, 2001.

FLEEKER, J. R.; LACY, H. M.; SCHULTZ, I. R.; HOUKOM, E. C. Persistence and metabolism of thiophanate-methyl in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, n.4, p. 592-595, 1974.

FRYE, J. W. **Efficacy of novel nematicide seed treatments for the control of *Heterodera glycines* in soybean production.** 2009. 50 p. Thesis (Master of Science) - North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.

HOESTRA, H. Effect of benomyl on the potato cyst nematode, *Heterodera rostochiensis*. **Netherland Journal of Plant Pathology**, v. 82, p. 17-23, 1976.

INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. Avaliação em casa de vegetação do uso de sorgo, milheto e crotalaria no manejo de *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, v.33, p.125-129, 2008.

JAEHN, A.; KIMOTO, T. Tratamento de alho-semente com abamectina para erradicação de *Ditylenchus dipsaci*. **Nematologia Brasileira**, v. 19, p. 97-99, 1995.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separation nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 48, n. 9, p. 692-695, 1964.

KUBO, R. K.; MACHADO, A. C. Z.; OLIVEIRAS, C. M. G. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 2, p.239-245, 2012.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas.** 6. ed. Editora Nobel: São Paulo, 1988, 314p.

McKELLAR, Q. A.; SCOTT, E. W. The benzimidazol anthelmintic – a rewiew. **Journal of Veterinary and Pharmacology Therapy**, v. 13, n. 3, p. 223-247, 1990.

McLEOD, R. W.; KHAIR, G. I. Effect of oximecarbamate, organophosphate and benzimidazole nematocides on life stages of root knot nematodes *Meloidogyne* spp. **Annals of Applied Biology**, v. 79, n. 3, p. 329-342, 1975.

VERSÃO DEFESA

MENDES, M. DE L.; RODRIGUEZ, P. B. N. Reação de cultivares de soja aos nematoides de galhas *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* raças 1, 2, 3 e 4. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 211–217, 2000.

MENDOZA, A. R.; KIEWNICK, S.; SKORA, R. A. In vitro activity of *Bacilus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. **Biocontrol Science and Technology**, V. 18, n. 4, p. 377-389, 2008.

MONFORT, W. S.; KIRKPATRICK, T. L.; LONG, D. L.; RIDEOUT, S. Efficacy of a novel nematicidal seed treatment against *Meloidogyne incognita* on cotton. **Journal of Nematology**, v. 38, n. 2, p. 245-249, 2006.

MOSER, T.; SCHALLNAß, H. J.; JONES, S. E.; VAN GESTEL, C. A.M. KOOLHAAS, J.; RODRIGUES, J. M. L.; RÖMBKE, J. Ring-testing and field-validation of a terrestrial model ecosystem (TME) –An instrument for testing potentially harmful substances: effects of carbendazim on nematodes. **Ecotoxicology**, v. 13, p. 61-74, 2004.

NUNES, H. T.; MONTEIRO, A. C.; POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 403-409, 2010.

NOVEMBRE, A. D. L. C.; MARCOS FILHO, J. Tratamento fungicida e conservação e sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 13, n. 2, p. 105-113, 1991.

OLIVEIRA, R. C.; DI MAURO, A. O.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; SANTOS, J. M.; OLIVEIRA, J. A.; PERECIN, D.; ARANTES, N. E. Progênies superiores de soja resistentes ao tipo 3 do nematoide de cisto da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.8, p.745-751, 2005.

PINO, F. G.; JOVÉ, M. Compatibility of entomopathogenic nematodes with fipronil. **Journal of Helminthology**, v. 79, n. 4, p. 333-337, 2005.

REZENDE, P. M.; MACHADO, J. C.; GRIS, C. F.; GOMES, L. L.; BOTREL, E. P. Efeito da semeadura a seco e tratamento de sementes na emergência, rendimento de grãos e outras características da soja [Glycine max (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia,** v. 27, n. 1, p. 76-83, 2003.

RIBEIRO, L. M.; CAMPOS, H. D.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; NEVES, D. L.; RIBEIRO, G. C. Effect of soybean seed treatment on the population dynamics of Pratylenchus brachyurus under water stress conditions. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2014.

SHARON, E.; CHET, I.; VITERBO, A.; BAR-EYAL, M.; NAGAN, H.; SAMUELS. G. J.; SPIEGEL, Y. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology**, v. 118, p. 247–258, 2007.

VERSÃO DEFESA

SILVA, C. M. M.; MELO, I. S. Biodegradação de fungicidas benzimidazois. In: MELO, I.S; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia ambiental**. Jaguariuna: EMBRAPA-CNPMA, 1997. p.141-165.

SUASSUNA, N.D.; CHITARRA, L.G.; ASMUS, G.L.; INOMOTO, M.M. **Manejo de doenças do algodoeiro**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2006. (Embrapa Algodão - Circular Técnica 97).

THOMASON, I. J.; VAN GUNDY, S. D.; KIRKPATRICK, J. D. Motility and infectivity of *Meloidogyne javanica* as affected by storage time and temperature in water. **Phytopathology**, v. 54, p. 192-195, 1964.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 473p.

TYLKA, G. L.; SILVA, M. B.; PECINOVSKY, K. T.; BASOL, T. L. Effects of seed treatments and a soil-applied nematicide on corn yields and nematode population densities. **Iowa State Research Farm Progress Reports**, 2011. Disponível em: <http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1076&context=farms_reports>. Acesso: 18 Jan. 2016.

VAN GUNDY, S. D. Ecology of *Meloidogyne* spp.- emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Eds.). **An advanced treatise on *Meloidogyne***. 1., Raleigh North Carolina. 1985. p. 177-182.

YORINORI, J. T. Risco de surgimento de novas doenças na cultura da soja. In: Congresso de Tecnologia e Competividade no Mercado Global, 1., 2000, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Fundação MT, 2000. p.165-169.

VERSÃO DE DEFESA

CAPÍTULO II

TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA SOBRE A INFECTIVIDADE DE *Meloidogyne javanica* EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

RESUMO: Objetivando-se avaliar o efeito direto do tratamento de sementes sobre a infectividade de juvenis, sob diferentes formas de exposição de ovos de *M. javanica* aos produtos destinados ao tratamento de sementes, em condições ambientais controladas, foram realizados quatro experimentos em Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia. Os tratamentos constaram de sementes de soja da cv. BMX Magna RR tratadas com agrotóxicos, sendo quatro de natureza química (Avicta Completo®, CropStar®, Standak Top® e Poncho®) e um microbiológico (VOTiVO®), além da testemunha tratada com água, em delineamento inteiramente casualizado. Sementes tratadas e não tratadas foram semeadas em bandejas contendo areia grossa esterilizada, em estádio V1 estas foram transplantadas individualmente para caixas acrílicas com 2,5cm^2 contendo areia grossa esterilizada, onde ovos de *M. javanica* submetidos a diferentes regimes e períodos de exposição aos produtos, foram inoculados. Aos 10 DAI o sistema radicular das plantas foram processados através da coloração de nematoides em tecidos vegetais e procedendo-se as contagens de J2 no sistema radicular. Os tratamentos CropStar® e Avicta Completo® inibiram 100% a infectividade de juvenis, quando os ovos foram expostos diretamente aos tratamentos por mais de uma hora e quando expostos pelo período de apenas uma hora não houve supressão na infectividade. Quando em menor concentração Poncho promoveu incremento da infectividade de juvenis de *M. javanica* em relação aos demais tratamentos e a testemunha. Outros intervalos de exposição de ovos do nematoide aos tratamentos devem ser estudados.

Palavras-chave: Nematoide das galhas, *Glycine max*, controle químico, nematicidas

VERSÃO DEFESA

INTRODUÇÃO

Mais de 100 espécies de nematoides, envolvendo cerca de 50 gêneros, foram associadas a cultivos de soja em todo o mundo. Entretanto, no Brasil, os nematoides mais prejudiciais à cultura têm sido os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.), o de cisto (*Heterodera glycines*), o das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e o reniforme (*Rotylenculus reniformis*) (DIAS et al., 2010).

Os primeiros relatos de danos causados em soja pelos nematoides das galhas no Brasil, são concomitantes à introdução da cultura no país. Dentre as espécies do gênero *Meloidogyne*, *M. incognita* [(KOFOID & WHITE, 1919) Chitwood, 1949] e *M. javanica* [(TREUB, 1885) Chitwood, 1949], são consideradas as que mais limitam a produção de soja no Brasil (EMBRAPA, 2011). Evidências apontam que *M. javanica* é a espécie responsável por maiores prejuízos na cultura da soja, cuja ocorrência é generalizada especialmente no Brasil Central (ASMUS, 2001).

Para o manejo destes parasitas, frequentemente, se recorre ao controle químico. Todavia, os nematicidas químicos têm seu uso cada vez mais limitado por sua alta toxicidade, risco de contaminação ambiental, alto custo, baixa disponibilidade em países em desenvolvimento ou baixa eficácia de controle após repetidas aplicações (DONG e ZHANG, 2006).

Entretanto, a agricultura moderna exige cada vez mais um manejo sustentável de nematoides, onde os fatores ambientais sejam priorizados. Para uma abordagem sustentável, um nematicida deve (i) oferecer proteção suficientemente restrita à área de atuação do patógeno, (ii) degradar num período razoável de tempo depois de ter uma alta atividade de controlo de nematoides, (iii) não emitirem compostos voláteis para a atmosfera, (iv) ter baixo impacto em organismos não-alvo, (v) ser aplicado quando a cultura é implantada para controlar possíveis reinfestações e (vi) representar baixo risco para a vida humana, incluindo a dos trabalhadores do campo (CABRERA et al., 2013). E dentre as formas disponíveis de controle químico de nematoides, o tratamento de sementes aparentemente preenche os requisitos pressupostos pelo manejo sustentável.

Neste contexto, pesquisas para elucidar os aspectos envolvidos nas interações entre os ingredientes ativos contidos nos produtos e seus efeitos diretos sobre os nematoides, bem como na forma em que atuam sobre o ambiente do patógeno, têm sido realizadas.

VERSÃO DEFESA

As propriedades tóxicas de alguns nematicidas sistêmicos, parecem estar mais relacionados de proteção da planta em vez diretamente tóxico para o nematoide. Nematicidas sistêmicos que são absorvidos e translocados para raízes inibem a alimentação do patógeno por inativação temporária ou por repelir os nematoides na região da rizosfera, em vez de matá-los como o termo nematicida indicaria. Neste caso, a morte ocorre devido a desorientação e falta de alimento, como resultado de um efeito indireto dos compostos nematicidas por modificações na região de atuação do patógeno (NOLING, 2011).

Entretanto, efeitos diretos de compostos com atividade nematicida também têm sido verificados, inclusive sobre a atuação destes em relação aos diferentes estádios de desenvolvimento dos nematoides (HOESTRA, 1976; CAYROL et al., 1993).

Testes *in vitro* sobre ovos de *Heterodera* spp. demonstraram que a eclosão de juvenis de foi fortemente inibida por um composto benzimidazol (HOESTRA, 1976). Concentrações de 1 ppm de abamectina sobre ovos de *M. arenaria* foram suficientes para inibir o desenvolvimento embrionário, sem reativação da eclosão quando os ovos expostos a água. Enquanto que concentrações acima de 0,6 ppm promoveram 100% de paralisia em juvenis após duas horas de exposição (CAYROL et al., 1993)

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito direto do tratamento de sementes sobre a infectividade de juvenis, sob diferentes formas de exposição de ovos de *M. javanica* aos produtos, em condições ambientais controladas.

VERSÃO DEFESA

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos quatro experimentos simultâneos no mês de maio de 2016, no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Federal da Grande Dourados, em sala climatizada a 27 ± 2º C com fotoperíodo de 14 horas, em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições e seis tratamentos.

Os tratamentos foram constituídos por sementes de soja (*Glycine max* L.) da cultivar BMX Magna RR (Don Mario 7.0i), tratadas agrotóxicos, sendo quatro produtos de natureza química e um microbiológico. Os nomes comerciais dos produtos, os ingredientes ativos e as doses utilizadas encontram-se descritos no Quadro 1. Como testemunha, foram utilizadas sementes da mesma cultivar tratadas com água, na dose de 600 mL 100 kg^{-1} de sementes, perfazendo um total de seis tratamentos. Em todos os tratamentos, adicionou-se água destilada até completar o volume de 600 mL 100 kg^{-1} de sementes, para assegurar que as sementes recebessem o mesmo volume de líquido, entre os tratamentos.

QUADRO 1. Produtos, ingredientes ativos e doses utilizadas no tratamento de sementes de soja para os experimentos

Produto Comercial	**Ingrediente ativo**	**Dose p.c. (mL 100 kg^{-1} sementes)**
Avicta Completo®	Abamectina + Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil-M	(*)
Poncho®	Clotianidina	100
VOTiVO®	*Bacillus firmus*	70
Standak Top®	Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato-metílico	200
CropStar®	Imidacloprido + Tiodicarbe	600

(*) Avicta Completo®: Avicta® (Abamectina 500 g L^{-1}) + Cruiser® (Thiamethoxam 350 g L^{-1}) + Maxim XL® (Fludioxonil 25 g L^{-1} + Metalaxil-M 10 g L^{-1}), nas doses de 100, 200 e 100 mL p.c. 100 kg^{-1} sementes, respectivamente.

A população de *M. javanica* utilizada no experimento, obtida de área naturalmente infestada, foi purificada e multiplicada em tomateiro (*Solanum lycopersicum* 'Santa Clara') em vasos com capacidade para 5000 mL, contendo como substrato uma mistura de solo + areia grossa + substrato comercial (1:1:1). O substrato

VERSÃO DEFESA

foi previamente esterilizado em autoclave (120°C, 1atm, 1h) por três dias consecutivos e mantidos em casa de vegetação. Para obtenção dos ovos, as raízes foram lavadas e trituradas em liquidificador em meio a uma solução de hipoclorito de sódio 0,5% conforme metodologia proposta por Bonetti e Ferraz (1981). O inóculo foi ajustado para 100 ovos mL^{-1} e todos os experimentos foram inoculados com 1mL da suspensão de ovos por plântula, utilizando micropipeta manual calibrada em 1000µL.

Após o tratamento fez-se a semeadura das sementes em bandejas plásticas contendo areia grossa esterilizada e mantidas em sala climatizada. Quando as plântulas atingiram estádio V1, conforme escala de Fehr e Caviness, (1977), iniciaram-se a montagem dos experimentos.

Em todos os experimentos foram utilizadas caixas de acrílico transparente, com dimensões 2,5 x 2,5 x 2,5cm (C x A x L) com tampa, na qual foram feitos orifícios de aproximadamente 1,0cm de diâmetro, preenchidas com areia grossa esterilizada, cujo volume definido até este atingir a borda inferior da tampa. Após a montagem unidades experimentais, constituídas pelas caixas com as plântulas e os respectivos tratamentos de cada ensaio, as laterais e o orifício restante ao redor do colo das plântulas foram vedados com fita adesiva para diminuir a perda de água por evaporação.

Durante o período de condução dos ensaios as plântulas foram irrigadas em intervalos de dois dias com água esterilizada utilizando dispensador manual calibrado para 4mL nas duas primeiras irrigações e 6mL na terceira, em cada unidade amostral.

No primeiro experimento, para verificar a solubilização e mobilidade dos produtos em meio ao substrato, plântulas oriundas de sementes não tratadas foram transplantadas para caixas acrílicas contendo uma semente de soja tratada com um dos produtos, depositada em uma das extremidades, recebendo na sequência o substrato. Após adicionou-se 5mL de água esterilizada e 1mL da suspensão contendo 100 ovos de *M. javanica*, depositado em um orifício perfurado entre o sistema radicular e a semente tratada. As unidades experimentais foram posteriormente vedadas e incubadas em ambiente climatizado conforme descrito anteriormente.

O segundo ensaio, para avaliar a solubilização em água e o efeito direto dos produtos sobre a infectividade de juvenis, sementes de cada tratamento foram colocadas em copos plásticos de 50mL contendo 4mL de água esterilizada. Após uma hora, foi acrescentado aos copos 1mL da suspensão contendo 100 ovos do nematoide, permanecendo por mais uma hora. Decorrido este período as sementes foram retiradas e

VERSÃO DEFESA

todo o conteúdo do copo foi depositado diretamente sobre as raízes, o copo foi lavado com mais 1mL de água que também foi vertido sobre as raízes, na sequência as caixas foram preenchidas com o substrato, vedadas e incubadas.

O terceiro experimento, para verificar o efeito da incubação em água após a exposição dos ovos aos tratamentos, na infectividade de juvenis. Foram confeccionadas micropeneiras a partir de ponteiras de micropipeta de 1000µL, através do seccionamento da base de encaixe entre esta e a pipeta e 1,5 cm da porção mediana da ponteira, de modo a obter dois cilindros de diferentes diâmetros. Em meio aos cilindros colocou-se um disco de malha de nylon de 30µm, encaixando-os. As micropeneiras foram aderidas, com fita adesiva, às laterais de copos plástico de 50mL onde adicionou-se uma semente tratada e 4mL de água de torneira esterilizada. Após uma hora, foi acrescentado aos copos 1mL da suspensão contendo 100 ovos do nematoide dispensado diretamente no interior das micropeneiras, permanecendo por mais uma hora. Decorrido este período as micropeneiras foram retiradas e lavadas em água esterilizada por 30 segundos. Plântulas oriundas de sementes não tratadas foram colocadas nas caixas e a inoculação procedeu-se através da inversão da peneira sobre o sistema radicular com posterior lavagem com jato forte de água esterilizada, com o auxílio de uma seringa. Na sequência o substrato foi colocado nas caixas e estas foram vedadas e incubadas.

Já o quarto experimento foi realizado para observar o efeito dos diferentes tratamentos de sementes sobre os ovos de *M. javanica* através da infectividade dos juvenis. As unidades experimentais foram montadas e incubadas da mesma forma que os demais ensaios, entretanto foram utilizadas plântulas oriundas das sementes tratadas. Os ovos foram inoculados em orifício perfurado cerca de 0,5cm de distância do colo das plântulas.

Decorridos 10 dias de incubação, iniciaram-se as avaliações dos experimentos. Para tanto, a parte aérea das plantas foram seccionadas e o sistemas radiculares retirados das caixas e lavadas em água corrente sobre peneira até a retirada do excesso de areia. Após secarem sobre papel jornal por aproximadamente 20 minutos, foram pesados e submetidos ao método de coloração de nematoides em tecidos vegetais com fucsina ácida (BIRD et al., 1983).

Após este processo, as mesmas foram armazenadas individualmente em frascos de acrílico contendo glicerina acidificada com HCl 5N, posteriormente, realizou-se a quantificação dos nematoides em microscópio óptico binocular, através do

VERSÃO DEFESA

seccionamento do sistema radicular e disposição destes em fileiras entre lâminas de vidro, com dimensões de 20 x 7cm, preenchidas por glicerina, quantificando-se o número de J2 presentes nas raízes. De posse dos resultados, calculou-se o número de J2 g^{-1} de raiz, dividindo-se o número total de juvenis quantificados na amostra pelo peso das raízes.

Nas análises estatísticas, para verificar a normalidade dos dados, foi utilizado o teste de Lilliefors e para as variáveis onde não se confirmou a distribuição normal, estes foram transformados em raiz quadrada (x+1). Os dados foram então submetidos à análise de variância e quando detectado efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste DMS-t a 5% de probabilidade, usando o programa computacional Genes (CRUZ, 2006).

VERSÃO DEFESA

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos experimentos conduzidos em condições ambientais controladas, para avaliar o efeito direto dos tratamentos de sementes sobre a infectividade de juvenis de *M. javanica*, foi possível observar diferença significativa entre os tratamentos para a variável número de juvenis de segundo estádio por grama de raízes (J2 g^{-1}) aos 10 dias após a inoculação (DAI) nos quatro experimentos (Quadro 2).

QUADRO 2. Resumo das análises de variância em função dos tratamentos de sementes de soja sobre a infectividade de juvenis de *Meloidogyne javanica* aos 10 dias após a inoculação (DAI), em quatro experimentos simultâneos, realizados em laboratório. Dourados – MS, 2016

Fonte de Variação	Quadrados médios		
	Tratamentos	CV (%)	Média geral
		Experimento 1	
J2 g^{-1}	891,297*	61,66	13,01
		Experimento 2	
J2 g^{-1}	150,055*	34,12	6,76
		Experimento 3	
J2 g^{-1}	68,728*	45,14	7,35
		Experimento 4	
J2 g^{-1}	12562,655*	52,28	30,72

* - significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Todos os experimentos foram inoculados com ovos de *M. javanica*, entretanto, os resultados aqui obtidos foram mensurados através da taxa de infectividade, visto que a inoculação foi realizada em meio a substrato. Tal metodologia não permite discernir se os efeitos produzidos pelos tratamentos foram pela atuação destes sobre o desenvolvimento embrionário, a eclosão ou sobre os juvenis após a eclosão. Apenas será considerado o efeito dos produtos através da quantidade de indivíduos que ingressaram o sistema radicular, haja vista que estes representam o risco real de prejuízos para as plantas.

No primeiro experimento (experimento 1), os tratamentos com Avicta Completo®, Standak Top® e CropStar® apresentaram médias de J2 g^{-1} de raízes

VERSÃO DEFESA

significativamente menores em relação à testemunha e os tratamentos com Poncho e VOTiVO® (Quadro 3).

QUADRO 3. Efeito direto dos tratamentos de sementes de soja sobre o número de juvenis de segundo estádio (J2) de *Meloidogyne javanica* por grama de raízes, aos dez dias após inoculação, em quatro experimentos conduzidos em laboratório. Dourados – MS, 2016

Tratamentos	J2 g^{-1}			
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Experimento 4
Testemunha	31,51 a	12,22 a	10,35 ab	7,52 b
Avicta Completo®	1,53 b	0,00 b	8,78 ab	4,65 b
Poncho®	21,72 a	10,87 a	3,58 b	132,03 a
VOTiVO®	20,91 a	7,27 a	4,00 ab	22,70 b
Standak Top®	1,79 b	10,18 a	4,91 ab	13,71 b
CropStar®	0,63 b	0,00 b	12,48 a	3,74 b

Médias originais. Para as análises estatísticas os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$.
Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si (DMS-t; $p \geq 0,05$).
Ingredientes ativos dos produtos formulados: **Avicta Completo®**: Abamectina +Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil. **Poncho®**: Clotianidina. **VOTiVO®**: *Bacillus firmus*. **Standak Top®**: Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato-metílico. **CropStar®**: Imidacloprido + Tiodicarbe.

No segundo experimento (Experimento 2), os resultados observados foram semelhantes ao experimento 1, à exceção do Standak Top® que neste caso, diferiu estatisticamente do Avicta Completo® e do CropStar® (Quadro 3).

De certa forma, os resultados obtidos em ambos experimentos condizem com os resultados esperados, considerando que dentre os produtos que promoveram menor infectividade de juvenis o Avicta Completo® e o CropStar®, pois estes representam os dois únicos produtos com atividades nematicidas destinados ao tratamento de sementes com registro de utilização e comercialização no Brasil.

Dentre os ingredientes ativos constituintes de Avicta Completo®, a abamectina é o composto classificado como nematicida. Já o produto CropStar®, embora recomendado para tratamento de sementes contra os nematoides *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus* para a cultura da soja e *M. incognita* e *P. brachyurus* em algodão no Brasil, é constituído pela associação dos compostos imidacloprido e tiodicarbe, ambos inseticidas (AGROFIT - MAPA).

A efeito do imidacloprido no controle de insetos encontra-se bem estabelecido e documentado na literatura, entretanto, não constam relatos do efeito deste sobre

VERSÃO DEFESA

fitonematoides, apenas trabalhos onde nematoides entomopatogênicos são expostos a soluções contendo o referido composto, afim de obter informações para recomendações de manejo integrado de pragas.

Testes laboratoriais visando verificar o efeito de imidacloprido sobre a sobrevivência e infectividade dos nematoides entomopatogênicos *Steinernema yirgalemense* e *Heterorhabditis zealandica*, indicaram que o composto não afetou os nematoides, mesmo utilizando dose duas vezes superior a recomendada em comparação com a incubação em água (LE VIEUX e MALAN, 2015). Estudos realizados por Alumai e Grewal (2004) e por Koppenhöfer et al. (2000) obtiveram efeitos sinérgicos entre *H. bacteriophora* e imidacloprido, enquanto que Alumai e Grewal (2004) também observaram que a combinação aumentou significativamente a patogenicidade de *H. bacteriophora*. Desta forma, a atividade nematicida do produto CropStar® está relacionada ao composto tiodicarbe.

O tratamento com VOTiVO®, apresentou média semelhante a testemunha para ambos experimentos (1 e 2) (Quadro 3). Considerando o caráter nematicida do produto e de alguns resultados na literatura apontarem seu efeito, principalmente, sobre ovos de nematoides (KEREN-ZUR et al., 2000; MENDOZA et al., 2008; TEREFE et al., 2009) este não apresentou redução na taxa de infectividade no presente trabalho.

Quanto ao modo de ação, Keren-Zur et al. (2000) verificaram que *B. firmus* age sobre *Meloidogyne* spp. colonizando os ovos ainda contidos nas massas gelatinosas. Outros estudos in vitro indicaram ainda que a produção de compostos secundários bioativos pela bactéria, inibiram o desenvolvimento embrionário e a infectividade de *M. incognita* (MENDOZA et al., 2008; TEREFE et al., 2009).

Como VOTiVO® não é registrado para utilização e comercialização no Brasil, não constam na literatura resultados de pesquisas conduzidas nas condições edafoclimáticas brasileiras, que são de suma importância em virtude deste ser composto por um micro-organismo. Desta forma, a ausência de resultados significativos sobre a infectividade de J2 de *M. javanica* aqui observados, podem estar associados à efeitos sobre a adaptação da bactéria às condições em que os experimentos foram conduzidos.

Já Standak Top® é composto por fipronil (inseticida) + piraclostrobina + tiofanato-metílico (ambos fungicidas), o resultado na redução da infectividade promovida pelo produto, no experimento 1, poderia estar relacionado provavelmente, com o efeito direto do composto tiofanato-metílico sobre os J2, já que o fipronil e a

VERSÃO DEFESA

piraclostrobina não apresentam efeito direto sobre nematoides (PINO e JOVÉ, 2005; CHAVES e PEDROSA, 2015).

Os efeitos antagônicos do tiofanato-metílico sobre nematoides encontram-se bem relatadas na literatura, através de estudos realizados com compostos da classe dos benzimidazóis. O composto tiofanato-metílico corresponde a um precursor de benzimidazol, uma vez que no solo é rapidamente convertido em carbendazim, compartilhando dessa forma, de um mesmo modo de ação (FLEEKER et al., 1974).

Testes *in vitro* demonstraram que a eclosão de juvenis de *Globodera rostochiensis*, foi fortemente inibida por um composto benzimidazol. No mesmo estudo, ensaio em vasos permitiram verificar supressão efetiva na formação de novos cistos sobre as raízes de batatas, cultivadas tanto em areia quanto em solo arenoso e argiloso, entretanto não houve tal efeito no solo rico em matéria orgânica, provavelmente por causa da forte adsorção de do composto (HOESTRA, 1976). Cavalier et al. (1987) observaram, dentre outros efeitos, inibição significativa na penetração de juvenis de segundo estádio de *Globodera rostochienesis* e *G. pallida* em raízes de batata.

A mobilidade e a distribuição de nematicidas no solo são provavelmente, tão importantes para controlar o nematoide quanto a sua toxicidade. Se concentrações tóxicas do nematicida não entram em contato com o nematoide durante tempo suficiente, os níveis aceitáveis de controle não irão ocorrer (NOLING, 2011).

Já o efeito letal de um nematicida é determinado por dois componentes básicos, a concentração do nematicida na solução e o tempo ao qual o nematoide é exposto, e ambos componentes diretamente relacionados com a capacidade do um ingrediente ativo dissolver-se em meio líquido (NOLING, 2011).

Assim, a solubilidade dos ingredientes ativos com atividade nematicida nos produtos testados foi verificada e de acordo com FAO (2015), a clotianidina (Poncho) apresenta solubilidade de 300 a 340 mg L^{-1}, seguida por tiofanato-metílico (Standak Top®) 24,6 mg L^{-1}, tiodicarbe (CropStar®) com 24,47 mg L^{-1} e abamectina 1,21 ± 0,15 mg L^{-1}, todos em água a 25°C e pH 7,0. Sendo a clotianidina o único composto caracterizado como medianamente hidrofílico, os demais são considerados pouco solúveis em água.

Diante do exposto, a inibição completa da infectividade de juvenis observada no experimento 2, para os tratamentos Avicta Completo® e CropStar® (Quadro 3), parece estar mais relacionada com a mobilidade dos produtos do que com a sua concentração,

VERSÃO DEFESA

haja vista que os componentes nematicidas dos referidos produtos são pouco solúveis e que o tempo de exposição dos ovos de *M. javanica* à solução nematicida foram os mesmos para os dois ensaios.

No experimento 1 os compostos, para atingir os ovos, necessitaram primeiramente ser solubilizados na água para posterior translocação no substrato. Ao passo que no experimento 2, os ingredientes ativos já se encontravam parcialmente dissolvidos em meio aquoso, sendo depositados diretamente sobre as raízes, o que permitiu uma melhor e mais rápida distribuição do produto dentro da unidade experimental em comparação ao experimento 1.

Entretanto, a diferença principal entre os experimentos 1 e 2 está na forma em que os ovos foram inicialmente expostos à solução nematicida, sendo no primeiro de modo indireto e o segundo diretamente sobre solução pré-dissolvida por 1 hora. Assim, é possível considerar que a inibição total na infectividade dos J2 exibida por Avicta Completo® e CropStar® se deu pela exposição direta dos ovos.

Estudos indicam que a maior parte dos compostos, quando aplicados em tratamento de sementes, permanecem concentrados no tegumento da semente (FASKE e STARR, 2007; FRYE, 2009). E embora, no experimento 2 as sementes tenham sido retiradas e que a solubilidade do Avicta Completo® e CropStar® seja baixa em água, a pequena concentração obtida no período total de duas horas, foi suficiente para inibir as atividades de *M. javanica*, confirmando a toxicidade *in vitro* da abamectina e do tiodicarbe.

Cayrol et al. (1993), testando a eficácia *in vitro* da abamectina no controle de *M. arenaria* em 19 diferentes concentrações variando de 0,1 a 100 ppm, constataram que a concentração de 0,1 ppm foi suficiente para inibir o desenvolvimento embrionário após 12 dias de incubação dos ovos e não houve reativação da eclosão quando estes foram expostos em água destilada por oito dias. Neste mesmo estudo, os autores observaram ainda que mesmo em baixa concentração (0,3 ppm) a paralisia de juvenis atingiu 80% após quatro horas de exposição e em concentrações acima de 0,6 ppm a paralisia foi de 100% após duas horas de exposição.

De acordo com a literatura, a paralisia que a abamectina promove em nematoides, é fruto do seu modo de ação, diferente dos observados para os fosfatos e carbamatos, pois são antagonistas do ácido gama-aminobutírico (GABA) um importante neurotransmissor inibitório do sistema nervoso de vertebrados e invertebrados (FRITZ

VERSÃO DEFESA

et al., 1979; KASS e LARSEN, 1982; CULLY et al., 1994; WANG, 1997; SCHUSKE et al., 2004; SIDDIQUI et al., 2010).

Mais especificamente, a abamectina tem ação neurotóxica, ligando-se aos receptores do neurônio pós-sináptico (posterior), estimulando uma maior liberação de GABA no neurônio pré-sináptico (anterior). Esses eventos promovem uma hiperpolarização do potencial de repouso das células pós-sinápticas, dificultando a neurotransmissão dos estímulos (TURNER e SCHAEFFER,1989), resultando na inibição tanto das comunicações nervo a nervo, quanto nervo a músculos, induzindo a paralisia e a morte do organismo (MOLINARI et al., 2010).

Já estudos sobre a atividade *in vitro* de tiodicarbe sobre fitonematoides são escassos. Em condições de casa de vegetação, Kubo et al. (2012) constataram que tratamento de sementes de algodoeiro cv. IAC 25 com tiodicarbe promoveu redução significativa na população de *Rotylenchulus reniformis* no interior do sistema radicular das plantas, em condição de casa de vegetação, aos 22 e 44 dias após a inoculação, em comparação com a testemunha.

No terceiro experimento (experimento 3), apenas verificou-se diferença significativa entre o tratamento CropStar® e o Poncho (Quadro 3). CropStar® apresentou a maior média de J2 g^{-1} de raízes, demonstrando menor eficácia no controle da infectividade do patógeno, visto que nos demais experimentos (1, 2 e 4) este integrou o grupo de tratamentos com maior efetividade.

Tais resultados podem ser parcialmente esclarecidos ao comparamos os experimentos 2 e 3. No experimento 2, onde o período total de exposição de *M. javanica* aos produtos foi de 10 dias, verificou-se inibição total na infectividade de J2 nos tratamentos com Avicta Completo® e CropStar®. No experimento 3, em que o período de exposição total dos ovos às soluções dos referidos tratamentos foi de uma hora, a inibição total não foi alcançada.

Diante disso, é possível afirmar que é necessário um período de incubação superior a uma hora para que haja inibição total da infectividade de J2 de *M. javanica* pelos ingredientes ativos abamectina e tiodicarbe. Entretanto, como a exposição por uma hora seguida da inoculação sem a retirada do excesso do produto não foi realizada, a reativação dos ovos em água, pode ter ocorrido, porém não pode ser confirmada.

VERSÃO DEFESA

Noling (2011) menciona que se a exposição é curta ou em baixa concentração, os efeitos talvez sejam reversíveis a medida que o produto é removido ou liberado do ambiente dos nematoides.

Neste contexto, Nordmeyer e Dickson (1980) observaram que a exposição das massas de ovos de *Meloidogyne javanica*, *M. arenaria* e *M. incognita* a soluções aquosas de abamectina nas concentrações 1/64, 1/16, 1/4 e 1 mg L^{-1} a 28 °C durante 5 dias, suprimiu completamente a eclosão dos ovos. O maior efeito inibitório sobre as três espécies foi observado com a utilização de abamectina, seguida por fenamifós > etoprofos > aldicarbe a 10 mg L^{-1}, oxamil a 100 mg L^{-1} e carbofurano > carbossulfano a 150 mg L^{-1}. No entanto, após a transferência das massas de ovos tratadas para a água, a reativação da eclosão foi mais rápida e em maior proporção para *M. javanica* que para *M. arenaria* e *M. incognita*, cujas taxas médias de recuperação para as três espécies foram de 59%, 38% e 19%, respectivamente.

Outra possível resposta para os efeitos verificados para o tratamento com CropStar® no experimento 3 está relacionado ao modo de ação do ingrediente ativo tiodicarbe que corresponde a um inseticida do grupo carbamato. Sendo assim, a sua toxicidade é atribuída a sua capacidade de inibir a ação da enzima acetilcolinesterase (FUKUTO, 1990).

Quando a acetilcolinesterase é inativada, pelo referido composto ou seus metabólitos, a enzima não é mais capaz de hidrolisar a acetilcolina aumentando a sua concentração e permanência no sítio de ligação, assim, ocorre hiperestimulação da fibra muscular resultando finalmente na exaustão destas, porém nem sempre essa exaustão promove a morte direta do organismo e sim alterações comportamentais que podem ser letais (FUKUTO, 1990; BUCKINGHAM et al., 1997; BROWN e INGIANNI, 2013).

A mortalidade do nematoide ocorre muitas vezes devido a um efeito na modificação comportamental. O rompimento de impulsos nervosos, que em última análise, pode ser letal em concentrações elevadas durante um período de tempo prolongado, afetam principalmente o comportamento e desenvolvimento do nematoide no solo. Por exemplo, se a mobilidade no solo é reduzida, bem como a penetração nas raízes, o processo de obtenção de alimentos é prejudicado. Nestes casos, a morte ocorre como um resultado de desorientação e falta de alimentação (NOLING, 2011).

No experimento 4, apenas o tratamento com Poncho diferiu significativamente dentre os produtos testados e a testemunha, apresentando a maior média de J2 g^{-1} de

VERSÃO DEFESA

raízes (Quadro 3). Tais resultados verificados para este produto no experimento 4 são exatamente inversos àqueles observados no experimento 3, onde Poncho foi responsável pela menor média de infectividade.

Acredita-se que os resultados ora mencionados estejam relacionados com a maior solubilidade em água do ingrediente ativo clotianidina dentre os produtos avaliados, resultando em maior concentração deste em relação aos demais tratamentos, visto que todos foram dispostos à solubilização em um mesmo período de tempo. Assim, quando os ovos foram expostos por uma hora às soluções dos tratamentos (experimento 3), aqueles incubados em solução do tratamento Poncho, estiveram expostos a uma solução com maior concentração de ingrediente ativo que os demais, afetando de alguma forma a infectividade dos J2.

O resultado inverso observado para o tratamento com Poncho no experimento 4, também pode estar relacionado com a natureza solúvel do ingrediente ativo aliada a baixa concentração. Como esse ensaio foi conduzido com plantas oriundas de sementes tratadas, que foram semeadas em bandejas contendo areia grossa e posteriormente transplantas para as unidades experimentais, a maior concentração do produto permaneceu na bandeja de onde as plântulas foram retiradas, sendo os ovos desta forma, expostos a menor concentração de ingrediente ativo, quando comparado aos demais produtos com ingredientes ativos com menor solubilidade.

Não foram verificados na literatura resultados sobre o efeito *in vitro* de clotianidina sobre fitonematoides. Entretanto, efeitos dessa natureza envolvendo outro ingrediente ativo foram observados em pesquisa realizada por Wright et al. (1984). Nesse estudo a supressão da eclosão de ovos de *Meloidogyne incognita* incubados em solução aquosa contendo 0,1 mg L^{-1} do metabólito B2a-23-cetona derivado de abamectina, foi observado após 24 horas de exposição. Entretanto, quando os ovos tratados foram transferidos para água e incubados por mais 4 dias, cuja concentração do ingrediente ativo encontra-se reduzida a eclosão foi retomada a uma taxa maior do que a observada na testemunha. Isto pode indicar que a embriogênese procedeu normalmente e que a eclosão foi interrompida apenas pela imobilização dos juvenis promovida pelo produto.

Desta forma, os indícios mencionados podem estar relacionados ao fato do produto Poncho ter apresentado médias de infectividade de J2 superiores aquelas observadas na testemunha.

VERSÃO DEFESA

CONCLUSÃO

CropStar® e Avicta Completo® reduziram a infectividade dos juvenis em todos os experimentos, exceto quando os ovos foram expostos aos tratamentos por uma hora.

CropStar® e Avicta Completo® inibiram 100% a infectividade de juvenis, quando os ovos foram expostos diretamente aos tratamentos por mais de uma hora.

Em menor concentração Poncho® promoveu incremento da infectividade de juvenis de *M. javanica.*

Outros estudos envolvendo diferentes intervalos de exposição de ovos aos tratamentos, intercalados a diferentes intervalos de exposição em água devem ser testados.

VERSÃO DEFESA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 03 Jul. 2016.

ALUMAI, A.; GREWAL, P. S. Tank-mix compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. **Biocontrol Science and Technology**, 14:7, p. 725-730, 2004.

ASMUS, G. L. Danos causados à cultura da soja por nematoides do gênero *Meloidogyne.* In: SILVA, J. F. V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina, Embrapa Soja: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 39-62, 2001.

BIRD JR., D. W.; KIRPATRICK, J.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v.15, p.142-143, 1983.

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

BUCKINGHAM, S. D.; LAPIED, B.; LE CORRONC, H.; GROLLEAU, F.; SATTELLE, D. B. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. **The Journal of Experimental Biology**, 200, 2685–2692, 1997.

CABRERA, J. A.; MENJIVAR, R. D.; DABABAT, A. E. A.; SIKORA, R. A. Properties and nematicide performance of avermectins. **Journal of Phytopathology**, v. 161, p. 65-69, 2013.

CAVALIER, A.; MUGNIERY, D.; MANSOUR, A. Aspects de l'activité biologique du bénomyl vis-à-vis des nématodes à kyste de la pomme de terre, *Globodera rostochiensis* Woll. et G. *pallida* Stone. **Revue de Nématologie**, v. 10, n. 1, p. 101-110, 1987.

CAYROL, J. C.; DJIAN, C.; FRANKOWSKI, J. P. Efficacy of abamectina B1 for the control of *Meloidogyne arenaria*. Fundamental and Applied Nematology, v. 16, n. 3, p. 239-246, 1993.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R. Ação de piraclostrobina como indutor de resistência a *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar - parte II: avaliação de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 32., Londrina, 2015. **Anais...** Piracicaba: SBN, 2015. p. 152.

VERSÃO DE DEFESA

CRUZ, C. D. **Programa genes**: estatística experimental e matrizes. EDITORA UFV. Viçosa, MG. 285p. 2006.

CULLY, D. F.; VASSILATIS, D. K.; LIU, K. K.; PARESS, P. S.; VAN DER PLOEG, L. H. T.; SCHAEFFER, J. M.; ARENA, J. P. Cloning of na avermectina-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, 371, p. 707-711, 1994.

DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S. **Nematoides em soja: identificação e controle**. Londrina, PR: EMBRAPA Soja, 2010. 8p. (Circular Técnica, 76).

DONG, L. Q.; ZHANG, K. Q. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. **Plant Soil**, v. 288, n. 1, p. 31-45, 2006.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de Produção de Soja** - Região Central do Brasil 2012 e 2013. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2011. 261p. (Sistemas de Produção, 15).

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Pesticide residues in food 2015** - Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues. (FAO plant production and protection paper 226). Disponível em: < http://www.fao.org/fileadmin/templates/ agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation2015/web_I5482E_JMPR_2015 _final.pdf>. Acesso em: 25 Jun. 2016.

FASKE, T. R.; STARR, J. L. Cotton root protection from plant-parasitic nematodes by abamectina-treated seed. **Journal of Nematology**, v. 39, n. 1, p. 27-30, 2007.

FEHR, W. R.; CAVINESS, Stages of soybean development. **Ames: iowa State University of Science and Technology**, 1977. 11p. (Special Report, 80).

FLEEKER, J. R.; LACY, H. M.; SCHULTZ, I. R.; HOUKOM, E. C. Persistence and metabolism of thiophanate-methyl in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, n.4, p. 592-595, 1974.

FRITZ, L.C.; WANG, C.C.; GORIO, A. Avermectin B1a irreversibly blocks postsynaptic potentials at the lobster neuromuscular junction by reducing muscle membrane resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. v. 76, p. 2062–2066, 1979.

FRYE, J. W. **Efficacy of novel nematicide seed treatments for the control of *Heterodera glycines* in soybean production.** 2009. 50 p. Thesis (Master of Science) - North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.

FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environmental Health Perspectives**, 87, p. 245-254, 1990.

VERSÃO DEFESA

HOESTRA, H. Effect of benomyl on the potato cyst nematode, *Heterodera rostochiensis*. **Netherland Journal of Plant Pathology**, v. 82, p. 17-23, 1976.

KASS, I. S.; LARSEN, D. A. *Ascaris suum*: Differential effects of avermectina B_{1a} on the intact animal and neuromuscular strip preparations. **Experimental Parasitology**, 54, p. 166-174, 1982.

KEREN-ZUR, M.; ANTONOV, J.; BERCOVITZ, A.; FELDMAN, K.; HUSID, A.; KENAN, G.; MARKOV, N.; REBHUN, M. *Bacillus firmus* formulations for the safe control of root-knot nematodes. **Proceedings of Brighton Crop Protection Conference on Pests and Diseases**, 2., p. 47-52, 2000.

KOPPENHÖFER, A. M.; BROWN, I. M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P. S.; KAYA, H. K.; KLEIN, M. G. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: greenhouse and field evaluation. **Biological Control**, 19, p. 245-251, 2000.

KUBO, R. K.; MACHADO, A. C. Z.; OLIVEIRAS, C. M. G. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. **Arquivos do Instituto Biológico**, 79:2, p.239-245, 2012.

LE VIEUX, P. D.; MALAN, A. P. Prospects for using entomopathogenic nematodes to control the vine mealybug, *Planococcus ficus*, in South African vineyards. **South African Journal of Enology and Viticulture**, 36:1, p. 59-70, 2015.

MENDOZA, A. R.; KIEWNICK, S.; SKORA, R. A. In vitro activity of *Bacilus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. **Biocontrol Science and Technology**, V. 18, n. 4, p. 377-389, 2008.

MOLINARI, G.; SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. L.; Cytotoxic effects of macrocyclic lactones, abamectin and ivermectina. **Cytogenetic and Genome Research**, 128, p. 37-45, 2010.

NOLING, J. W. Movement and toxicity of nematicides in the plant root zone. **University of Florida IFAS Extension**. 2011. Disponível em: < https://edis.ifas.ufl. edu/pdffiles/NG/NG00200.pdf>. Acesso em: 21 Jun. 2016.

NORDMEYER, D.; DICKSON, D. W. Effect of oximecarbamates, organophosphates and one avermectin on the hatc hability of three *Meloidogyne* sp. **Nematropica**, v. 10, p. 69, 1980.

PINO, F. G.; JOVÉ, M. Compatibility of entomopathogenic nematodes with fipronil. **Journal of Helminthology**, v. 79, n. 4, p. 333-337, 2005.

SCHUSKE, K.; BEG, A. A.; JORGENSEN, E. M. The GABA nervous system in *C. elegans*. **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 7, p. 407-414, 2004.

VERSÃO DE DEFESA

SIDDIQUI, S. Z.; BROWN, D. D. R.; RAO, V. T. S.; FORRESTER, S. G. Na UNC-49 GABA receptor subunit from the parasitic nematode *Haemonchus contortus* is associated with enhanced GABA sensitivity in nematode heteromeric channels. **Journal of Neurochemistry**, v. 113, p. 1113-1122, 2010.

TEREFE, M.; TEFERA, T.; SAKHUJA, P. K. Effect of a formulation of *Bacillus firmus* on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infestation and the growth of tomato plants in the greenhouse and nursery. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 100, p. 94-99, 2009.

TURNER, M. J.; SCHAEFFER, J. M. Mode of action of ivermectin. In. CAMPBELL, W. C. (Ed.). **Ivermectin and Abamectin**. New York: Spring Verlag, 1989. p. 73-88.

WANG, C. C. Validating targets for antiparasite chemotherapy. **Parasitology**, v. 114, p. 31-44, 1997.

WRIGHT, D. J.; BIRTLE, A. J.; ROBERTS, I. T. J. Triphasic locomotor response of a plant-parasitic nematode to avermectin : inhibition by the GABA antagonists biculline and picrotoxin. **Parasitology**, v. 88, p. 375-382, 1984.

VERSÃO DEFESA

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento de sementes com CropStar® e Avicta Completo® mostraram-se promissores para integrar as medidas de controle de nematoides, em virtude dos efeitos negativos sobre juvenis de segundo estádio, observados em razão de terem promovido as menores taxas de infectividade de juvenis tanto no experimento a campo aos 13 DAS, quanto nos experimentos de efeito direto em condições controladas.

VERSÃO DEFESA